

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION
(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner
US Department of Commerce
United States Patent and Trademark
Office, PCT
2011 South Clark Place Room
CP2/5C24
Arlington, VA 22202
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 07 May 2001 (07.05.01)	
International application No. PCT/EP00/07440	Applicant's or agent's file reference 0050/050559
International filing date (day/month/year) 01 August 2000 (01.08.00)	Priority date (day/month/year) 09 August 1999 (09.08.99)
Applicant KLING, Andreas et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

26 February 2001 (26.02.01)

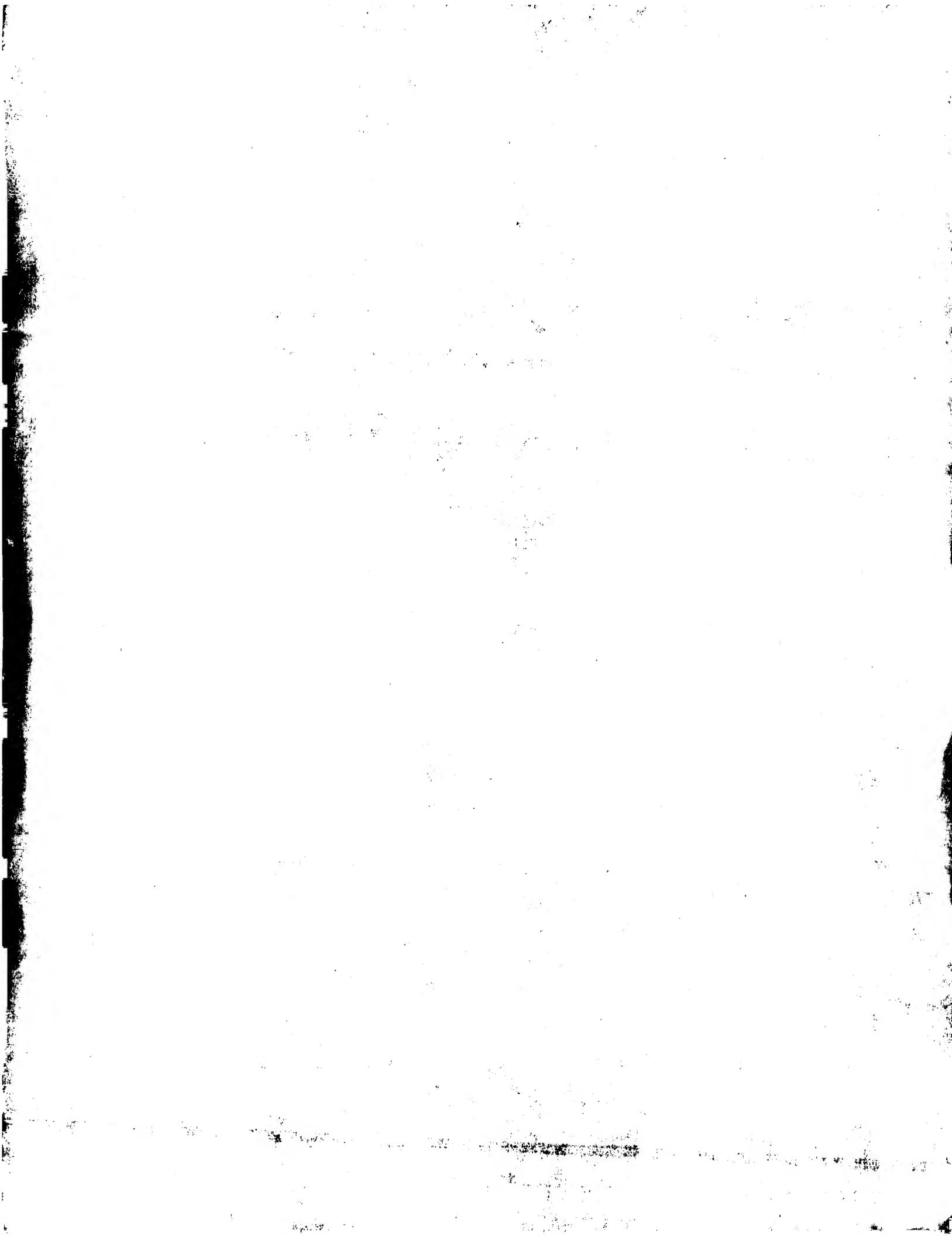
in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election was

was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Nestor Santesso
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Telephone No.: (41-22) 338.83.38



VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
FÜR DEM GEBIET DES PATENTWAHLRECHTS

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Annehmers oder Anwalts OZ50/050559	WEITERES VORGEHEN	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 00/07440	Internationales Anmelde datum (Tag/Monat/Jahr) 01/08/2000	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 09/08/1999
Annehmer BASF AKTIENGESELLSCHAFT et al.		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Annehmer gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 4 Blätter.

Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. **Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen** (siehe Feld I).

3. **Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung** (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**

wird der vom Annehmer eingereichte Wortlaut genehmigt.

wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der **Zusammenfassung**

wird der vom Annehmer eingereichte Wortlaut genehmigt.

wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Annehmer kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. —

wie vom Annehmer vorgeschlagen

weil der Annehmer selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

keine der Abb.



INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/07440

Feld III WORTLAUT DER ZUSAMMENFASSUNG (Fortsetzung von Punkt 5 auf Blatt 1)

Die Erfindung betrifft Verbindungen.

der Formel I

B-G-L

I

wobei. G und L folgende Bedeutung haben:

L ein Strukturelement der Formel I_L

-U-T

I_L

wobei

T eine Gruppe COOH oder einen zu COOH hydrolysebaren Rest und

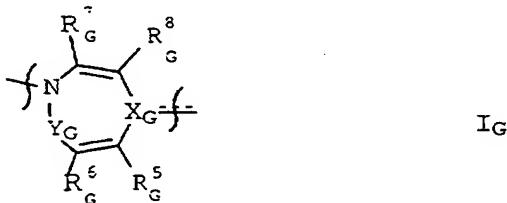
-U- -(X_L)_a-(CR_L¹R_L²)_b-, -CR_L¹=CR_L²-, Ethinylen oder =CR_L¹- bedeuten, wobei

a 0 oder 1,

b 0, 1 oder 2

X_L CR_L³R_L⁴, NR_L⁵, Sauerstoff oder Schwefel,

G ein Strukturelement der Formel I_G

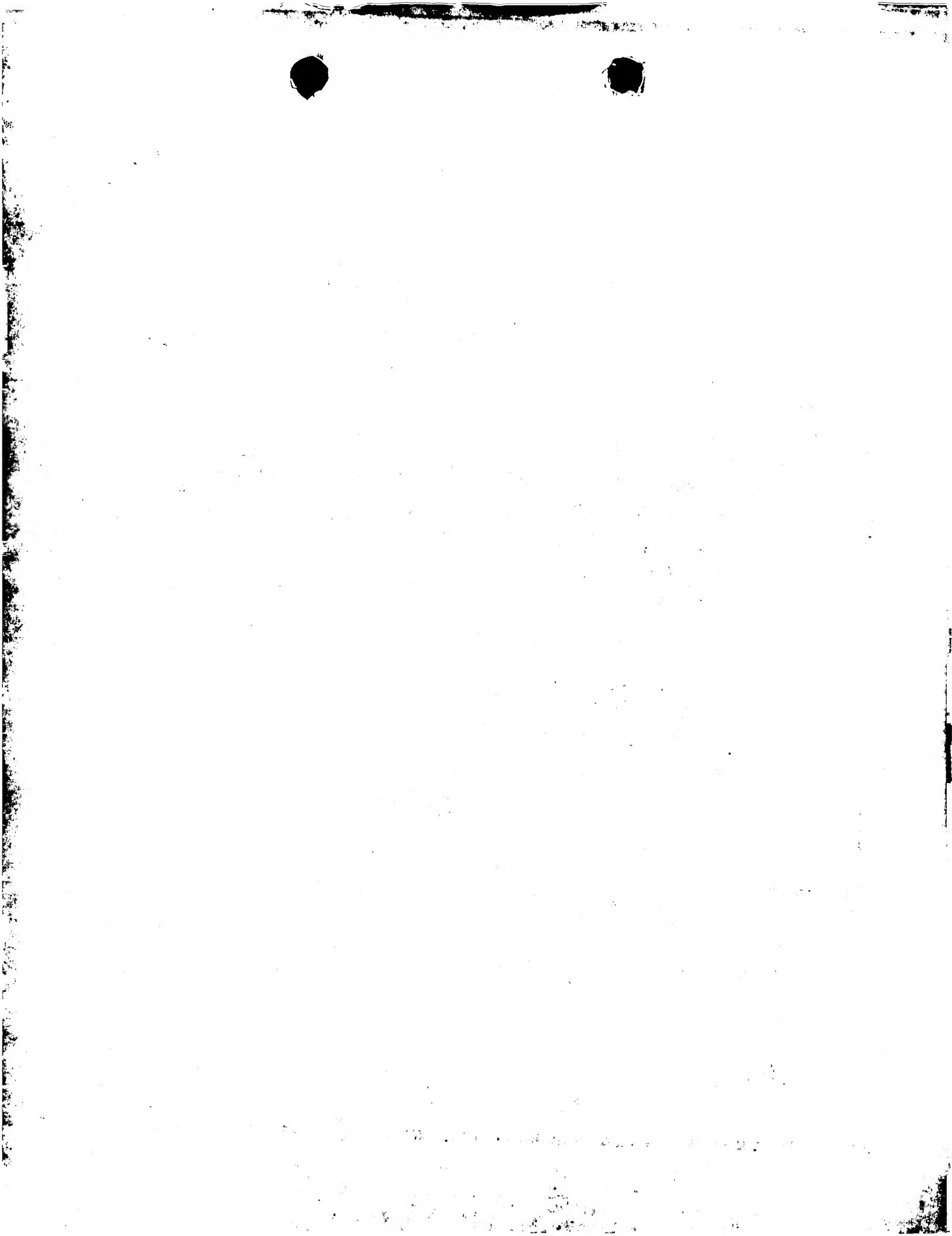


wobei

der Einbau des Strukturelements G in beiden Orientierungen erfolgen kann und

X_G Stickstoff oder CR_G¹

, die an Integrinrezeptoren binden, deren Herstellung und deren Verwendung als Arzneimittel.



INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

EP 00/07440

A. KLASSEFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7	C07D401/12	A61K31/55	A61P43/00	C07D401/14	C07D213/73
	C07D403/12	C07D491/04	C07D409/14	C07D223/20	C07D409/12
	C07D417/12	C07D417/14	C07D495/04	C07D495/14	

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C07D A61K A61P

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie ^a	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 99 15508 A (SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION) 1. April 1999 (1999-04-01) in der Anmeldung erwähnt Ansprüche	1,8,10
A	WO 97 01540 A (SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION) 16. Januar 1997 (1997-01-16) in der Anmeldung erwähnt Ansprüche	1,8,10
A	WO 99 31099 A (MERCK & CO., INC.) 24. Juni 1999 (1999-06-24) Ansprüche	1,8,10

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

- ^a Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
- *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- *&* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

8. Mai 2001

21/05/2001

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Van Bijlen, H

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

EP 00/07440

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
**IPK 7 // (C07D491/04, 233:00, 221:00), (C07D495/04, 333:00, 223:00),
(C07D495/14, 333:00, 333:00, 223:00)**

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie ^o	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

^o Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
'A' Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
'E' älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
'L' Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
'O' Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
'P' Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

'T' Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
'X' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden
'Y' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
'&' Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
8. Mai 2001	

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Van Bijlen, H

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

EP 00/07440

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 9915508	A 01-04-1999	AU 9397298 A BG 104314 A CN 1278250 T EP 1025090 A NO 20001407 A PL 339381 A SK 4082000 A ZA 9808562 A		12-04-1999 31-01-2001 27-12-2000 09-08-2000 17-03-2000 18-12-2000 12-09-2000 19-03-1999
WO 9701540	A 16-01-1997	BR 9606200 A CA 2192764 A HU 9603432 A NO 965607 A NZ 299914 A AU 7546196 A CZ 9603679 A EP 0910563 A JP 11508887 T US 6008213 A		03-11-1998 12-06-1998 28-09-1998 29-06-1998 27-04-1998 25-06-1998 12-08-1998 28-04-1999 03-08-1999 28-12-1999
WO 9931099	A 24-06-1999	AU 1725799 A AU 1914499 A BG 104601 A BR 9813574 A CN 1284955 T EP 1047425 A EP 1040111 A NO 20003113 A WO 9930709 A US 6066748 A US 6017926 A US 6066648 A ZA 9811500 A		05-07-1999 05-07-1999 31-01-2001 10-10-2000 21-02-2001 02-11-2000 04-10-2000 16-08-2000 24-06-1999 23-05-2000 25-01-2000 23-05-2000 17-06-1999

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts O.Z.50/50559-009	WEITERES VORGEHEN	siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)
Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/07440	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 01/08/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 09/08/1999
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C07D243/00		
Anmelder BASF AKTIENGESELLSCHAFT et al.		
<p>1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.</p> <p>2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 6 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.</p> <p><input type="checkbox"/> Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).</p> <p>Diese Anlagen umfassen insgesamt Blätter.</p>		
<p>3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Grundlage des Berichts II <input type="checkbox"/> Priorität III <input checked="" type="checkbox"/> Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit IV <input type="checkbox"/> Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung V <input checked="" type="checkbox"/> Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung VI <input type="checkbox"/> Bestimmte angeführte Unterlagen VII <input type="checkbox"/> Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung VIII <input type="checkbox"/> Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung</p>		

Datum der Einreichung des Antrags 26/02/2001	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 08.11.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde: Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Mathys, E Tel. Nr. +49 89 2399 8596
 	

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/07440

I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigefügt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):
Beschreibung, Seiten:

1-136 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-14 ursprüngliche Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

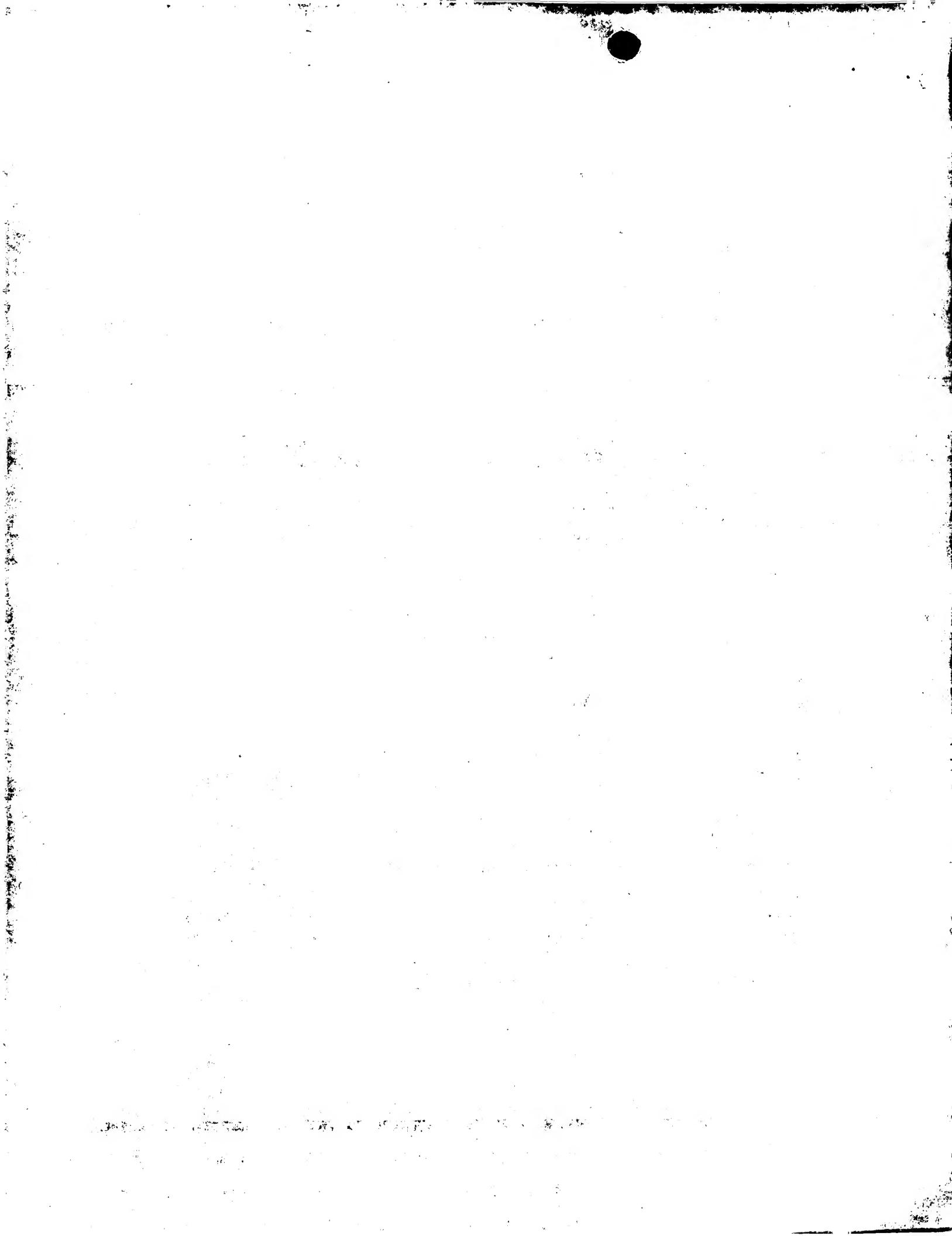
- die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- Beschreibung, Seiten:
- Ansprüche, Nr.:
- Zeichnungen, Blatt:



INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/07440

5. Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

III. Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

1. Folgende Teile der Anmeldung wurden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend (nicht offensichtlich) und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

die gesamte internationale Anmeldung.
 Ansprüche Nr. 10,11,13,14.

Begründung:

Die gesamte internationale Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine internationale vorläufige Prüfung durchgeführt werden braucht (*genaue Angaben*):
siehe Beiblatt

Die Beschreibung, die Ansprüche oder die Zeichnungen (*machen Sie hierzu nachstehend genaue Angaben*) oder die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unklar, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):

Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte.

Für die obengenannten Ansprüche Nr. wurde kein internationaler Recherchenbericht erstellt.

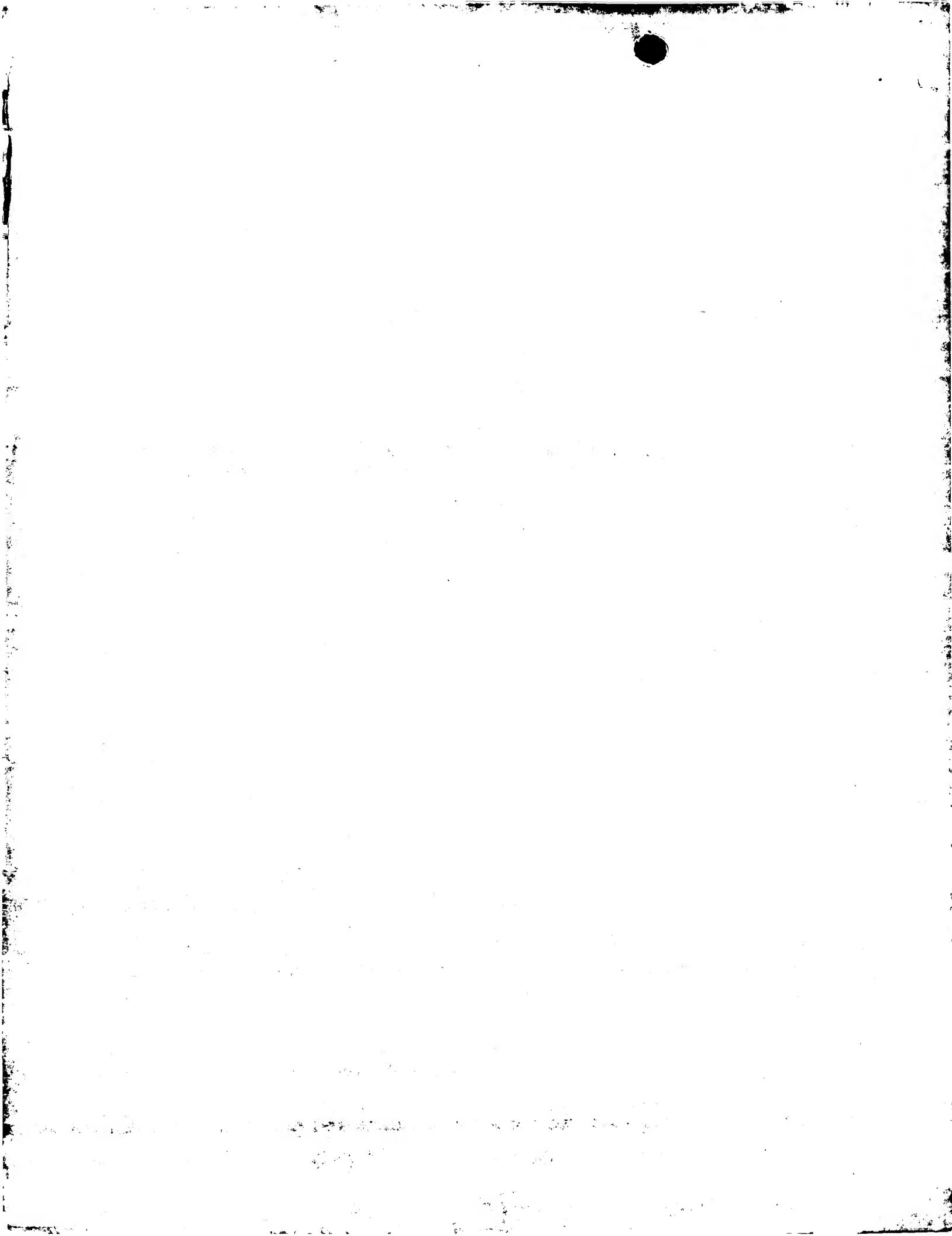
2. Eine sinnvolle internationale vorläufige Prüfung kann nicht durchgeführt werden, weil das Protokoll der Nukleotid- und/oder Aminosäuresequenzen nicht dem in Anlage C der Verwaltungsvorschriften vorgeschriebenen Standard entspricht:

Die schriftliche Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.

Die computerlesbare Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.

V. Begründung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung



**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT**

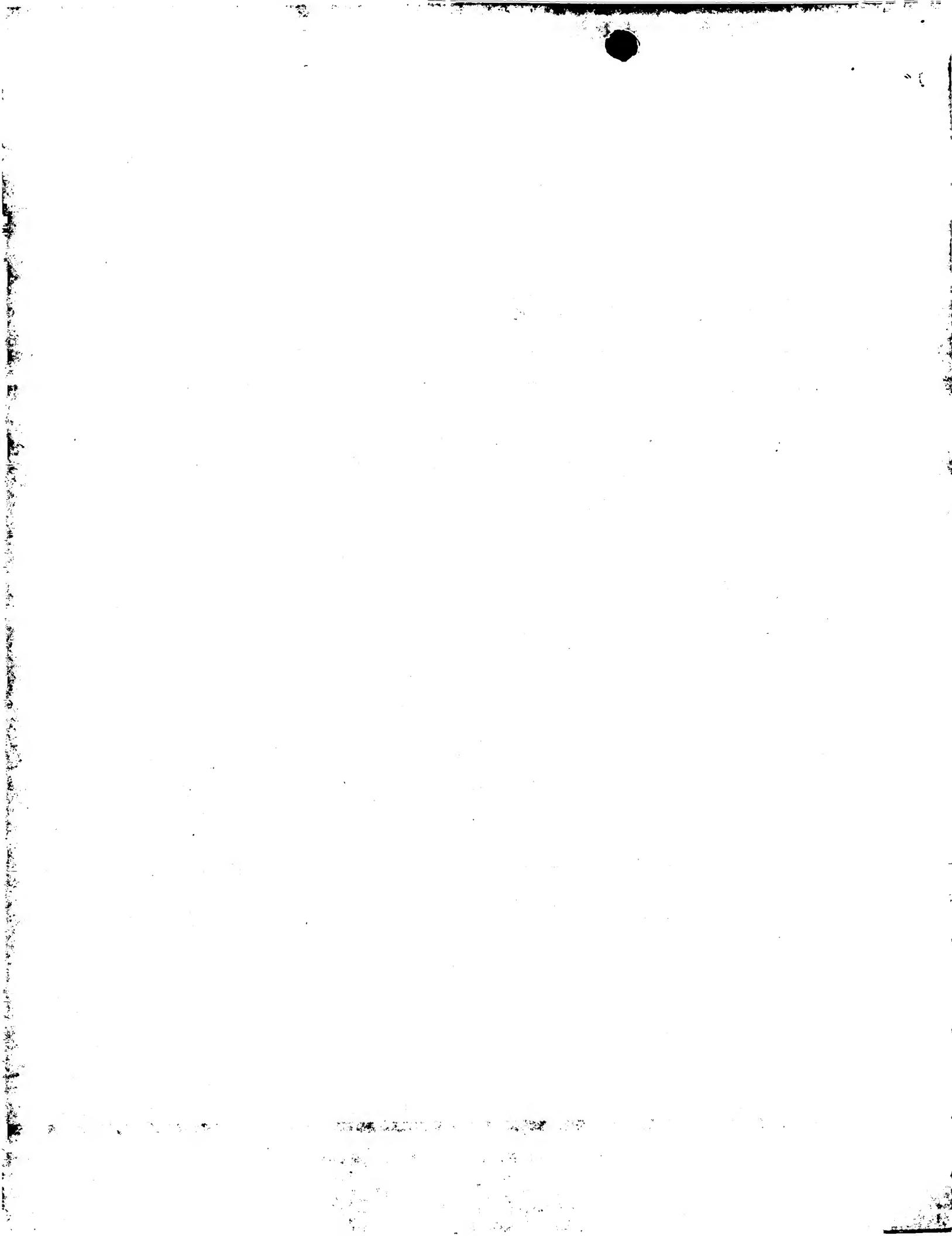
Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/07440

Neuheit (N) Ja: Ansprüche 1-14
Nein: Ansprüche

Erfinderische Tätigkeit (ET) Ja: Ansprüche
Nein: Ansprüche 1-14

Gewerbliche Anwendbarkeit (GA) Ja: Ansprüche 1-9,12
Nein: Ansprüche

**2. Unterlagen und Erklärungen
siehe Beiblatt**



PUNKT III

Die Ansprüche 10,11,13 und 14 beziehen sich auf einen Gegenstand, der nach Auffassung dieser Behörde unter die Regel 67.1 (iv) PCT fällt. Daher wird über die gewerbliche Anwendbarkeit des Gegenstands dieser Ansprüche kein Gutachten erstellt (Artikel 34(4) a) (i) PCT, vgl. auch Punkt V).

PUNKT V

Neuheit

Von durch (D1) WO-A-99/15508, (D2) WO-A-97/01540 und (D3) WO-A-99/31099 offenbarten Verbindungen unterscheiden sich vorliegende dadurch, dass sie das polycyclische Ringsystem, den Wasserstoffakzeptor und /oder die Brücke zwischen diesen beiden Strukturelementen abgeändert haben.

Erfinderische Tätigkeit

Von durch D1 bis D3 offenbarten Verbindungen gleicher Wirkungsrichtung unterscheiden sich vorliegende im wesentlichen nur gerade dadurch, dass sie das polycyclische Ringsystem, den Wasserstoffakzeptor und /oder die Brücke zwischen diesen beiden Strukturelementen insofern abgeändert haben, als sie durch Strukturelemente ersetzt sind, deren Äquivalenz bekannt bzw. zu erwarten war. Somit war es für den mit der Aufgabe, Alternativen zu den bekannten Verbindungen zur Verfügung zu stellen, betrauten Fachmann naheliegend, derartige Variationen am Molekül vorzunehmen. Die auf diesem Gebiet möglichen Voraussagen werden durch die auf wenigen experimentellen Ergebnissen basierenden äusserst breit angelegten Verallgemeinerungen bezüglich der verschiedenen Strukturelemente durch die Anmelderin selber illustriert.

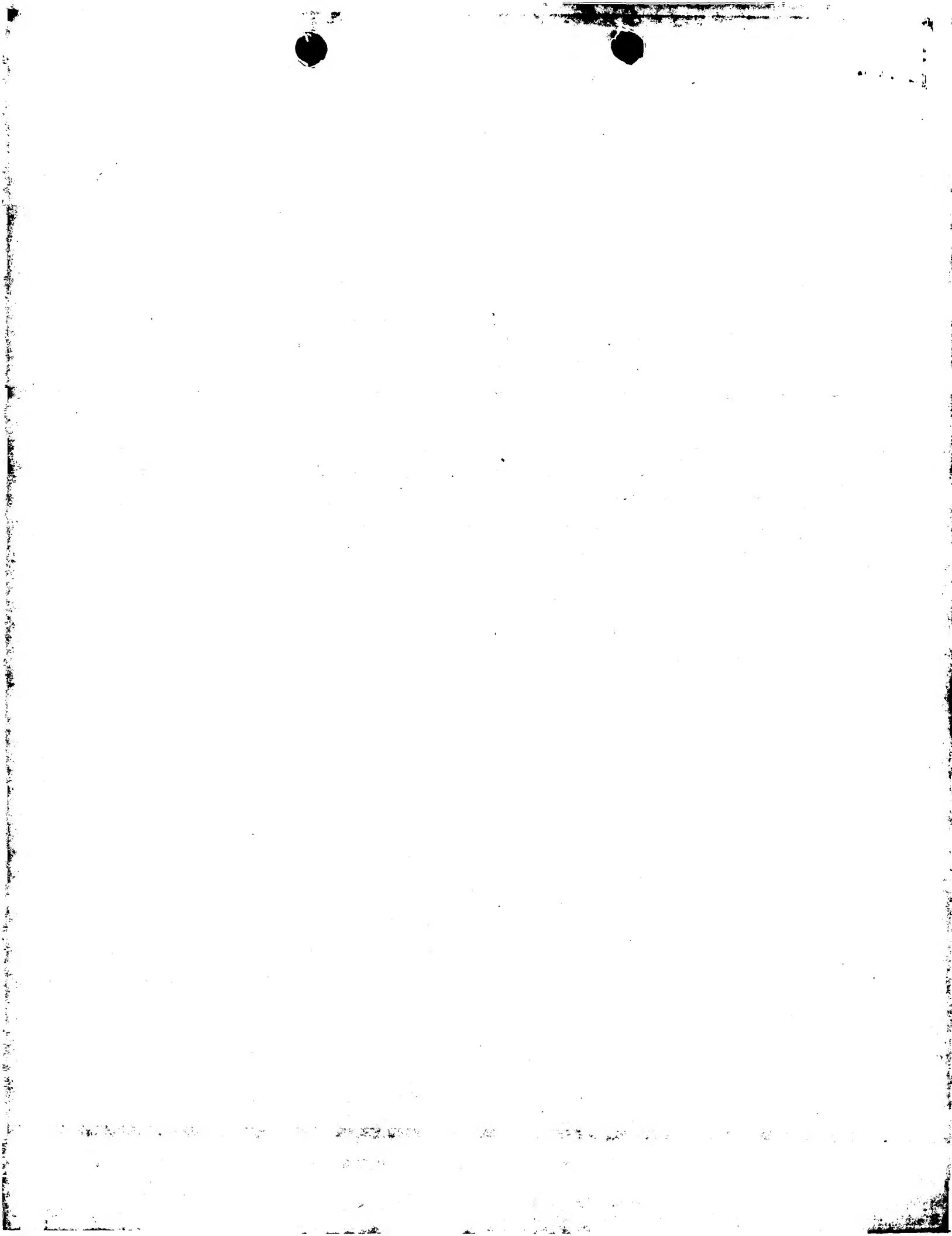
Der Gegenstand dieser Ansprüche beruht somit nicht auf einer erforderlichen Tätigkeit und erfüllt daher die Erfordernisse des Artikels 33(3) PCT nicht.

Eine erforderliche Tätigkeit für vorliegende Verbindungen wäre nur dann gegeben, wenn für diese anhand von Vergleichsversuchen gegenüber den nächstkommenen Verbindungen (vgl. diesbezüglich die durch Massnahmenangaben ausgeklammerten Verbindungen) des genannten Standes der Technik unerwartete Eigenschaften oder Vorteile, bzw. die unerwartete Lösung einer noch nicht gelösten Aufgabe, nachgewiesen würde.

Patentbegründendes müsste sich dabei auf den ganzen beanspruchten Rahmen erstrecken. Vorliegend verwendete breite Definitionen (wie z.B. substituiert (ohne Angabe der Substituenten), Aryl, 3 bis 7gliedriger Carbo- oder Heterocyclus, Definition von B, usw.) sind dazu keinesfalls geeignet. Es scheint, dass in Anbetracht des äusserst nahen Standes der Technik bestenfalls spezifische offenbarte Verbindungen beansprucht werden könnten und von diesen ausgehend keine oder eine nur sehr begrenzte Verallgemeinerung möglich wäre.

Gewerbliche Anwendbarkeit

Für die Beurteilung der Frage, ob die Gegenstände der vorliegenden Ansprüche 10, 11, 13 und 14 gewerblich anwendbar sind, gibt es in den PCT-Vertragsstaaten keine einheitlichen Kriterien. Die Patentierbarkeit kann auch von der Formulierung der Ansprüche abhängen. Das EPA beispielsweise erkennt den Gegenstand von Ansprüchen, die auf die medizinische Anwendung einer Verbindung gerichtet sind, nicht als gewerblich anwendbar an; es können jedoch Ansprüche zugelassen werden, die auf eine bekannte Verbindung zur erstmaligen medizinischen Anwendung und die Verwendung einer solchen Verbindung zur Herstellung eines Arzneimittels für eine neue medizinische Anwendung gerichtet sind.



**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM
GEBIET DES PATENTWESENS**

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

REC'D 12 NOV 2001

PCT

T16

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts O.Z.50/50559-009	WEITERES VORGEHEN	siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)																
Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/07440	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 01/08/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 09/08/1999																
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C07D243/00																		
Anmelder BASF AKTIENGESELLSCHAFT et al.																		
<p>1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.</p> <p>2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 6 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.</p> <p><input type="checkbox"/> Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).</p> <p>Diese Anlagen umfassen insgesamt Blätter.</p>																		
<p>3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:</p> <table style="margin-left: 20px;"> <tr><td>I</td><td><input checked="" type="checkbox"/> Grundlage des Berichts</td></tr> <tr><td>II</td><td><input type="checkbox"/> Priorität</td></tr> <tr><td>III</td><td><input checked="" type="checkbox"/> Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erforderliche Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit</td></tr> <tr><td>IV</td><td><input type="checkbox"/> Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung</td></tr> <tr><td>V</td><td><input checked="" type="checkbox"/> Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erforderlichen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung</td></tr> <tr><td>VI</td><td><input type="checkbox"/> Bestimmte angeführte Unterlagen</td></tr> <tr><td>VII</td><td><input type="checkbox"/> Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung</td></tr> <tr><td>VIII</td><td><input type="checkbox"/> Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung</td></tr> </table>			I	<input checked="" type="checkbox"/> Grundlage des Berichts	II	<input type="checkbox"/> Priorität	III	<input checked="" type="checkbox"/> Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erforderliche Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit	IV	<input type="checkbox"/> Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung	V	<input checked="" type="checkbox"/> Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erforderlichen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung	VI	<input type="checkbox"/> Bestimmte angeführte Unterlagen	VII	<input type="checkbox"/> Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung	VIII	<input type="checkbox"/> Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung
I	<input checked="" type="checkbox"/> Grundlage des Berichts																	
II	<input type="checkbox"/> Priorität																	
III	<input checked="" type="checkbox"/> Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erforderliche Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit																	
IV	<input type="checkbox"/> Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung																	
V	<input checked="" type="checkbox"/> Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erforderlichen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung																	
VI	<input type="checkbox"/> Bestimmte angeführte Unterlagen																	
VII	<input type="checkbox"/> Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung																	
VIII	<input type="checkbox"/> Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung																	

Datum der Einreichung des Antrags 26/02/2001	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 08.11.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Mathys, E Tel. Nr. +49 89 2399 8596





**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/07440

I. Grundlag des B richts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigefügt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*): **Beschreibung, Seiten:**

1-136 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-14 ursprüngliche Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

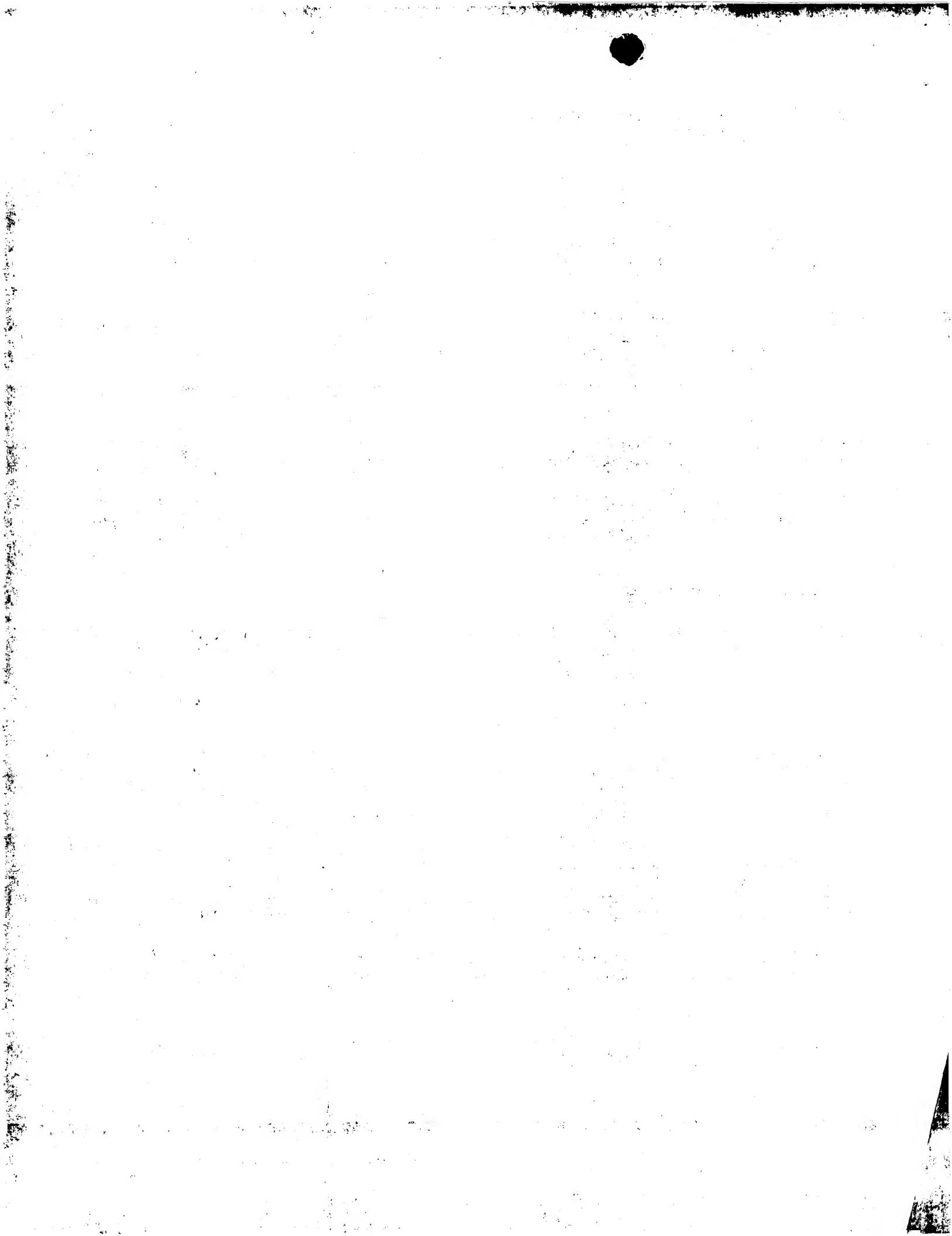
- die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- Beschreibung, Seiten:
- Ansprüche, Nr.:
- Zeichnungen, Blatt:



INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/07440

5. Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

III. Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

1. Folgende Teile der Anmeldung wurden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend (nicht offensichtlich) und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

die gesamte internationale Anmeldung.
 Ansprüche Nr. 10,11,13,14.

Begründung:

Die gesamte internationale Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine internationale vorläufige Prüfung durchgeführt werden braucht (*genaue Angaben*):
siehe Beiblatt

Die Beschreibung, die Ansprüche oder die Zeichnungen (*machen Sie hierzu nachstehend genaue Angaben*) oder die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unklar, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):

Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte.

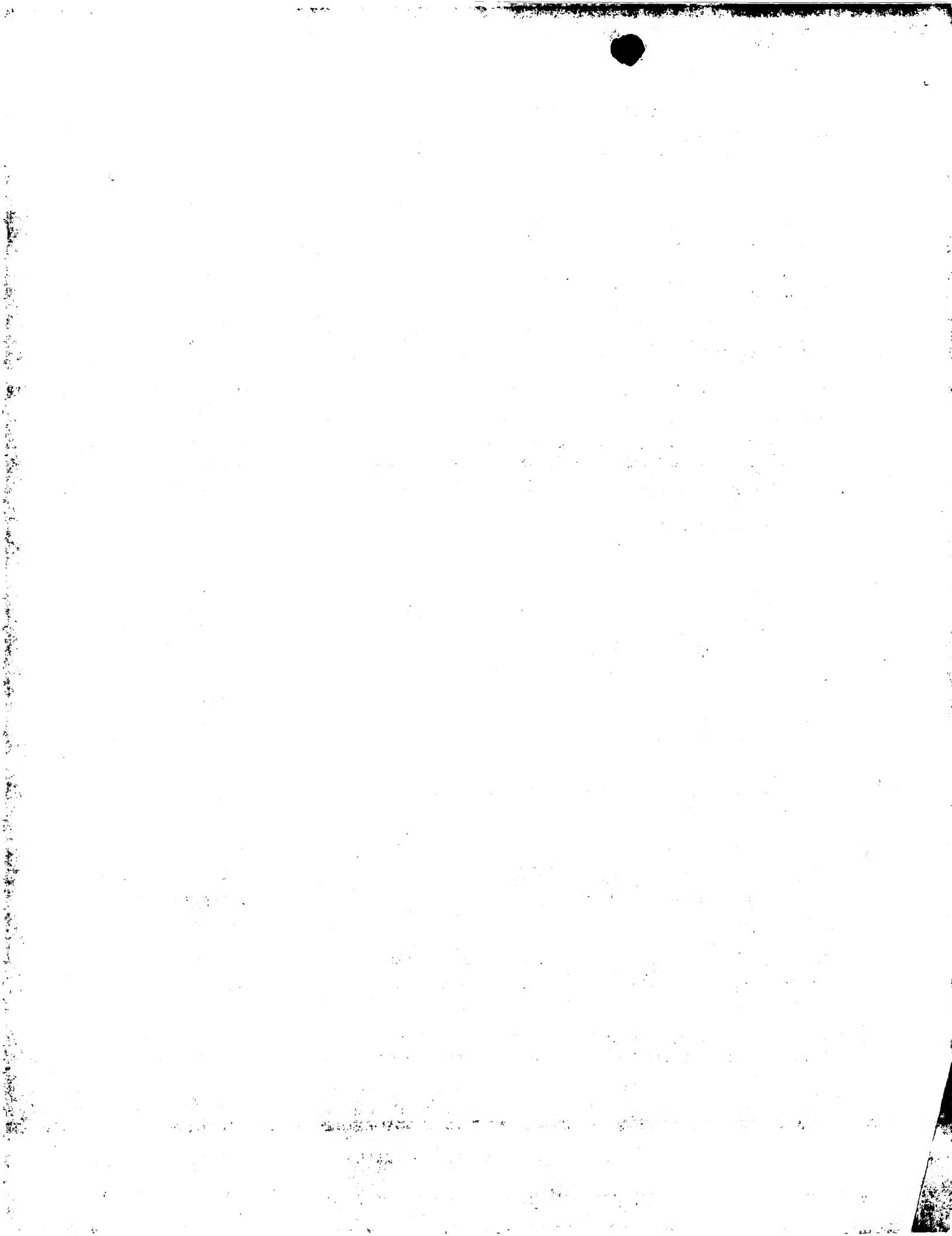
Für die obengenannten Ansprüche Nr. wurde kein internationaler Recherchenbericht erstellt.

2. Eine sinnvolle internationale vorläufige Prüfung kann nicht durchgeführt werden, weil das Protokoll der Nukleotid- und/oder Aminosäuresequenzen nicht dem in Anlage C der Verwaltungsvorschriften vorgeschriebenen Standard entspricht:

Die schriftliche Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.
 Die computerlesbare Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung



**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/07440

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-14
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	
	Nein: Ansprüche	1-14
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-9,12
	Nein: Ansprüche	

**2. Unterlagen und Erklärungen
siehe Beiblatt**

PUNKT III

Die Ansprüche 10,11,13 und 14 beziehen sich auf einen Gegenstand, der nach Auffassung dieser Behörde unter die Regel 67.1 (iv) PCT fällt. Daher wird über die gewerbliche Anwendbarkeit des Gegenstands dieser Ansprüche kein Gutachten erstellt (Artikel 34(4) a) (i) PCT, vgl. auch Punkt V).

PUNKT V

Neuheit

Von durch (D1) WO-A-99/15508, (D2) WO-A-97/01540 und (D3) WO-A-99/31099 offenbarten Verbindungen unterscheiden sich vorliegende dadurch, dass sie das polycyclische Ringsystem, den Wasserstoffakzeptor und /oder die Brücke zwischen diesen beiden Strukturelementen abgeändert haben.

Erfinderische Tätigkeit

Von durch D1 bis D3 offenbarten Verbindungen gleicher Wirkungsrichtung unterscheiden sich vorliegende im wesentlichen nur gerade dadurch, dass sie das polycyclische Ringsystem, den Wasserstoffakzeptor und /oder die Brücke zwischen diesen beiden Strukturelementen insofern abgeändert haben, als sie durch Strukturelemente ersetzt sind, deren Äquivalenz bekannt bzw. zu erwarten war. Somit war es für den mit der Aufgabe, Alternativen zu den bekannten Verbindungen zur Verfügung zu stellen, betrauten Fachmann naheliegend, derartige Variationen am Molekül vorzunehmen. Die auf diesem Gebiet möglichen Voraussagen werden durch die auf wenigen experimentellen Ergebnissen basierenden äusserst breit angelegten Verallgemeinerungen bezüglich der verschiedenen Strukturelemente durch die Anmelderin selber illustriert.

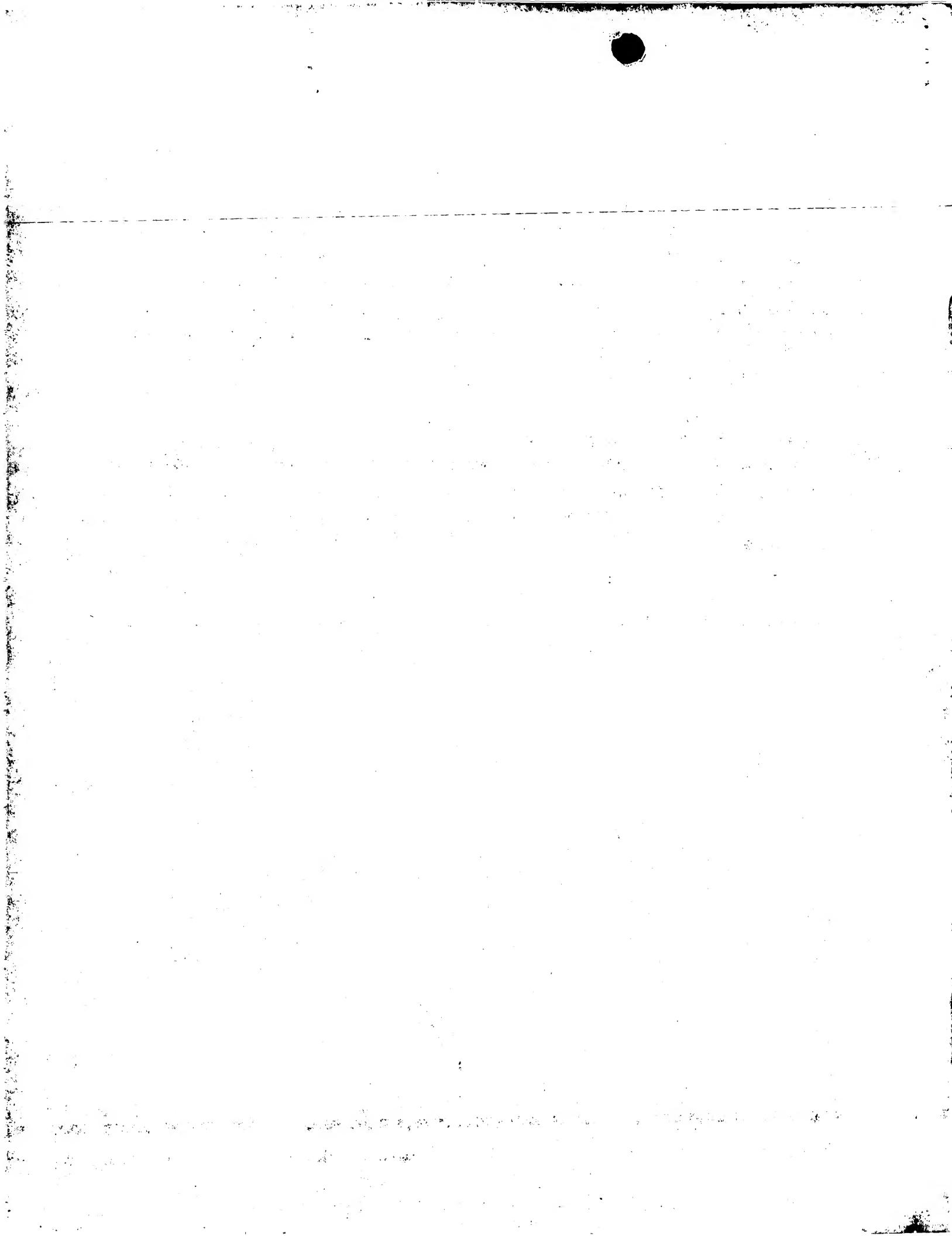
Der Gegenstand dieser Ansprüche beruht somit nicht auf einer erforderlichen Tätigkeit und erfüllt daher die Erfordernisse des Artikels 33(3) PCT nicht.

Eine erforderliche Tätigkeit für vorliegende Verbindungen wäre nur dann gegeben, wenn für diese anhand von Vergleichsversuchen gegenüber den nächstkommenen Verbindungen (vgl. diesbezüglich die durch Massnahmenangaben ausgeklammerten Verbindungen) des genannten Standes der Technik unerwartete Eigenschaften oder Vorteile, bzw. die unerwartete Lösung einer noch nicht gelösten Aufgabe, nachgewiesen würde.

Patentbegründendes müsste sich dabei auf den ganzen beanspruchten Rahmen erstrecken. Vorliegend verwendete breite Definitionen (wie z.B. substituiert (ohne Angabe der Substituenten), Aryl, 3 bis 7gliedriger Carbo- oder Heterocyclus, Definition von B, usw.) sind dazu keinesfalls geeignet. Es scheint, dass in Anbetracht des äusserst nahen Standes der Technik bestenfalls spezifische offenbarte Verbindungen beansprucht werden könnten und von diesen ausgehend keine oder eine nur sehr begrenzte Verallgemeinerung möglich wäre.

Gewerbliche Anwendbarkeit

Für die Beurteilung der Frage, ob die Gegenstände der vorliegenden Ansprüche 10, 11, 13 und 14 gewerblich anwendbar sind, gibt es in den PCT-Vertragsstaaten keine einheitlichen Kriterien. Die Patentierbarkeit kann auch von der Formulierung der Ansprüche abhängen. Das EPA beispielsweise erkennt den Gegenstand von Ansprüchen, die auf die medizinische Anwendung einer Verbindung gerichtet sind, nicht als gewerblich anwendbar an; es können jedoch Ansprüche zugelassen werden, die auf eine bekannte Verbindung zur erstmaligen medizinischen Anwendung und die Verwendung einer solchen Verbindung zur Herstellung eines Arzneimittels für eine neue medizinische Anwendung gerichtet sind.



Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

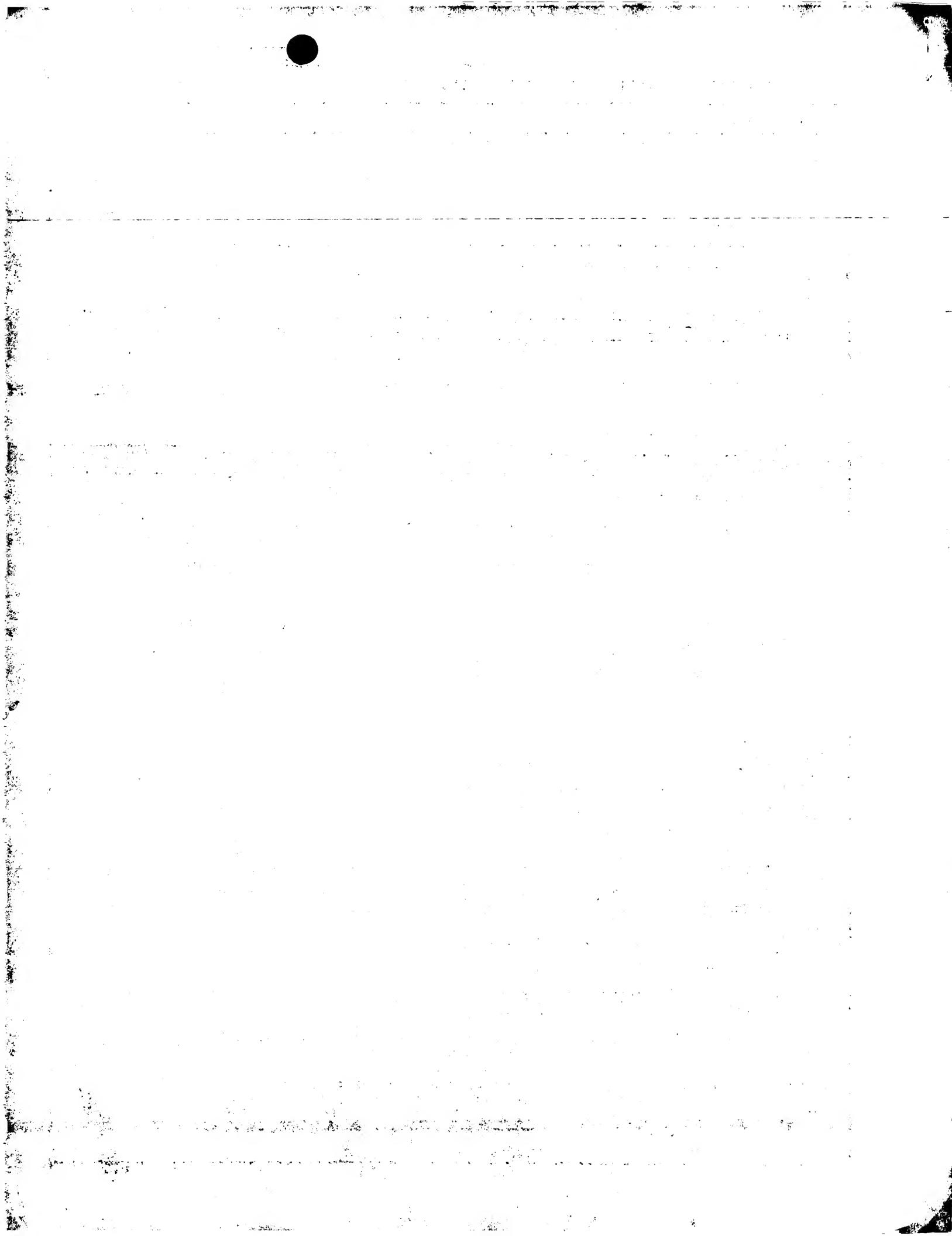
(PCT Article 36 and Rule 70)

10/049866

Applicant's or agent's file reference O.Z.50/050559-009	FOR FURTHER ACTION	See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)
International application No. PCT/EP00/07440	International filing date (day/month/year) 01 August 2000 (01.08.00)	Priority date (day/month/year) 09 August 1999 (09.08.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C07D243/00		
Applicant BASF AKTIENGESELLSCHAFT		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of <u>6</u> sheets, including this cover sheet.
<input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT). These annexes consist of a total of _____ sheets.
3. This report contains indications relating to the following items:
I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report
II <input type="checkbox"/> Priority
III <input checked="" type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention
V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited
VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application
VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 26 February 2001 (26.02.01)	Date of completion of this report 08 November 2001 (08.11.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP00/07440

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application:*

 the international application as originally filed the description:

pages 1-136, as originally filed

pages _____, filed with the demand

pages _____, filed with the letter of _____

 the claims:

pages 1-14, as originally filed

pages _____, as amended (together with any statement under Article 19)

pages _____, filed with the demand

pages _____, filed with the letter of _____

 the drawings:

pages _____, as originally filed

pages _____, filed with the demand

pages _____, filed with the letter of _____

 the sequence listing part of the description:

pages _____, as originally filed

pages _____, filed with the demand

pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

 the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)). the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)). the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

 contained in the international application in written form. filed together with the international application in computer readable form. furnished subsequently to this Authority in written form. furnished subsequently to this Authority in computer readable form. The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished. The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.4. The amendments have resulted in the cancellation of: the description, pages _____ the claims, Nos. _____ the drawings, sheets/fig. _____5. This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

the entire international application.

claims Nos. 10,11,13,14

because:

the said international application, or the said claims Nos. _____ relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (specify):

See supplemental sheet.

the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. _____ are so unclear that no meaningful opinion could be formed (specify):

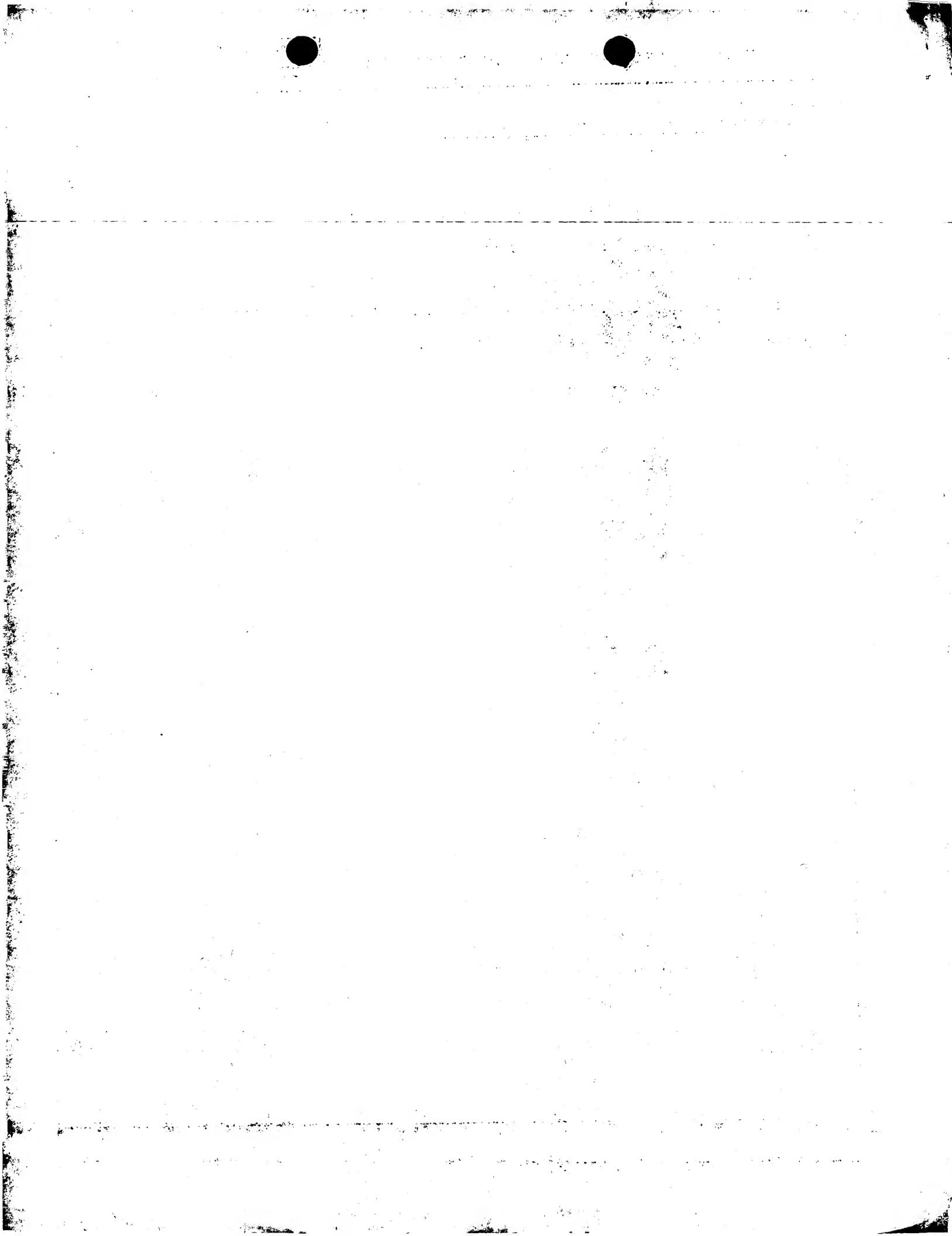
the claims, or said claims Nos. _____ are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.

no international search report has been established for said claims Nos. _____

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

the written form has not been furnished or does not comply with the standard.

the computer readable form has not been furnished or does not comply with the standard.



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/EP 00/07440

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: III.1

Claims 10, 11, 13 and 14 relate to subject matter which, in the opinion of the Examining Authority comes under PCT Rule 67.1(iv). In consequence, no expert report has been established in respect of the industrial applicability of said claims (PCT Article 34(4)(a)(i) - see also Box V).

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-14	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-14	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-9, 12	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Novelty

The present compounds are distinguished from those disclosed in WO-A-99/15508 (D1), WO-A-97/01540 (D2) and WO-A-99/31099 (D3) by modification of the polycyclic ring system, the hydrogen acceptor and/or the bridge between said two structural elements.

Inventive step

The only essential difference between the present compounds and those with the same general effect disclosed in D1 to D3 is to be found in modification of the polycyclic ring system, the hydrogen acceptor and/or the bridge between said two structural elements, in so far as they are replaced by structural elements of known or predictable equivalence. Therefore, for the person skilled in the art seeking to address the problem of devising alternatives to the known compounds, to implement molecular variations of this type was an obvious step. The possible predictions in this area are illustrated by the applicant himself in the generalisations relating to the various structural elements, which generalisations are based on few experimental results and are extremely broad.

In consequence, the subject matter of said claims does not involve an inventive step and therefore fails to meet the requirements of PCT Article 33(3).

The present compounds would be found to involve an inventive step only if, as a result of comparative tests in relation to the closest compounds (see in this regard the compounds excluded by proviso) from the cited prior art, they were shown to have unexpected properties or advantages, or to offer the unexpected solution of a hitherto unsolved problem.

Substantiation of patent claims must extend to the whole scope claimed. The broad definitions used in the present application (such as, for example, "substituted" (without identifying the substituents) "aryl", "3- to 7-membered carbo- or heterocycles", "definition of B", etc.) are not suitable for this purpose. It appears that, in view of the very closely related prior art, at best specifically disclosed compounds could be claimed and with these as the starting point no generalisation, or only very limited generalisation, would be possible.

Industrial applicability

The PCT Contracting States do not have uniform criteria for assessing the industrial applicability of Claims 10, 11, 13 and 14 in their present form. Patentability may depend on the wording of the claims. The EPO, for example, does not recognise the industrial applicability of claims to the medical use of a compound; it does, however, allow claims to the first medical use of a known compound or to the use of such a compound in the manufacture of a drug for a new medical application.



Neue Antagonisten von Integrinrezeptoren

Beschreibung

5

Die Erfindung betrifft neue Verbindungen, die an Integrinrezeptoren binden, deren Herstellung und Verwendung.

Integrine sind Zelloberflächen-Glycoproteinrezeptoren, die
10 Wechselwirkungen zwischen gleichartigen und unterschiedlichen Zellen sowie zwischen Zellen und extrazellulären Matrixproteinen vermitteln. Sie sind an physiologischen Prozessen, wie z.B. Embryogenese, Hämostase, Wundheilung, Immunantwort und Bildung/Aufrechterhaltung der Gewebearchitektur beteiligt.

15

Störungen in der Genexpression von Zelladhäsionsmolekülen sowie Funktionsstörungen der Rezeptoren können zur Pathogenese vieler Erkrankungen, wie beispielsweise Tumore, thromboembolische Ereignisse, kardiovaskuläre Erkrankungen, Lungenkrankheiten, 20 Erkrankungen des ZNS, der Niere, des Gastrointestinaltraktes oder Entzündungen beitragen.

Integrine sind Heterodimere aus jeweils einer α - und einer β -Transmembran-Untereinheit, die nicht-kovalent verbunden sind.

25 Bisher wurden 16 verschiedene α - und 8 verschiedene β -Untereinheiten und 24 verschiedene Kombinationen identifiziert.

Integrin $\alpha_v\beta_3$, auch Vitronectinrezeptor genannt, vermittelt die Adhäsion an eine Vielzahl von Liganden - Plasmaproteine, extrazelluläre Matrixproteine, Zelloberflächenproteine -, von denen der Großteil die Aminosäuresequenz RGD enthält (Cell, 1986, 44, 517-518; Science 1987, 238, 491-497), wie beispielsweise Vitronectin, Fibrinogen, Fibronectin, von Willebrand Faktor, Thrombospondin, Osteopontin, Laminin, Collagen, Thrombin, 35 Tenascin, MMP-2, bone-sialo-Protein II, verschiedene virale, parasitäre und bakterielle Proteine, natürliche Integrin-Antagonisten wie Disintegrine, Neurotoxine - Mambin - und Blutegelproteine - Decorsin, Ornatin - sowie einige nicht-RGD-Liganden, wie beispielsweise Cyr-61, PECAM (L. Piali, J. Cell Biol. 1995, 40 130, 451-460; Buckley, J. Cell Science 1996, 109, 437-445, J. Biol. Chem. 1998, 273, 3090-3096).

Mehrere Integrinrezeptoren zeigen Kreuzreaktivität mit Liganden, die das RGD-Motiv enthalten. So erkennt Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$, auch 45 Plättchen-Fibrinogen-Rezeptor genannt, Fibronectin, Vitronectin, Thrombospondin, von Willebrand Faktor und Fibrinogen.

Integrin $\alpha_v\beta_3$ ist u.a. exprimiert auf Endothelzellen, Blutplättchen, Monocyten/Makrophagen, Glattmuskelzellen, einigen B-Zellen, Fibroblasten, Osteoclasten und verschiedenen Tumorzellen, wie beispielsweise Melanome, Glioblastome, Lungen-, Brust-, Prostata- und Blasenkarzinome, Osteosarkome oder Neuroblastome.

Eine erhöhte Expression beobachtet man unter verschiedenen pathologischen Bedingungen, wie beispielsweise im prothrombotischen Zustand, bei Gefäßverletzung, Tumorwachstum oder -metastasierung 10 oder Reperfusion und auf aktivierten Zellen, insbesondere auf Endothelzellen, Glattmuskelzellen oder Makrophagen.

Eine Beteiligung von Integrin $\alpha_v\beta_3$ ist unter anderem bei folgenden 15 Krankheitsbildern nachgewiesen:

Kardiovaskuläre Erkrankungen wie Atherosklerose, Restenose nach Gefäßverletzung, und Angioplastie (Neointimabildung, Glattmuskelzellmigration und Proliferation) (J. Vasc. Surg. 1994, 19, 125-134; Circulation 1994, 90, 2203-2206),

20 akutes Nierenversagen (Kidney Int. 1994, 46, 1050-1058; Proc. Natl. Acad. Sci. 1993, 90, 5700-5704; Kidney Int. 1995, 48, 1375-1385),

25 Angiogenese-assoziierte Mikroangiopathien wie beispielsweise diabetische Retinopathie oder rheumatische Arthritis (Ann. Rev. Physiol 1987, 49, 453-464; Int. Ophthalmol. 1987, 11, 41-50; Cell 1994, 79, 1157-1164; J. Biol. Chem. 1992, 267, 10931-10934),

30 arterielle Thrombose,

Schlaganfall (Phase II Studien mit ReoPro, Centocor Inc., 8th annual European Stroke Meeting),

35 Krebserkrankungen, wie beispielsweise bei der Tumormetastasierung oder beim Tumorwachstum (tumorinduzierte Angiogenese) (Cell 1991, 64, 327-336; Nature 1989, 339, 58-61; Science 1995, 270, 1500-1502),

40 Osteoporose (Knochenresorption nach Proliferation, Chemotaxis und Adhäsion von Osteoclasten an Knochenmatrix) (FASEB J. 1993, 7, 1475-1482; Exp. Cell Res. 1991, 195, 368-375, Cell 1991, 64, 327-336),

Bluthochdruck, Psoriasis, Hyperparathyroismus, Paget'sche Erkrankung, maligne Hypercalcemie, metastatische osteolytische Läsionen, Entzündung, Herzinsuffizienz, CHF, sowie bei

5 anti-viraler, anti-parasitärer oder anti-bakterieller Therapie und Prophylaxe (Adhäsion und Internalisierung).

Aufgrund seiner Schlüsselrolle sind pharmazeutische Zubereitungen, die niedermolekulare Integrin $\alpha_v\beta_3$ Antagonisten

10 enthalten, u.a. in den genannten Indikationen von hohem therapeutischen bzw. diagnostischen Nutzen.

Vorteilhafte $\alpha_v\beta_3$ -Integrinrezeptorantagonisten binden an den Integrin $\alpha_v\beta_3$ Rezeptor mit einer erhöhten Affinität.

15 Besonders vorteilhafte $\alpha_v\beta_3$ -Integrinrezeptorantagonisten weisen gegenüber dem Integrin $\alpha_v\beta_3$ zusätzlich eine erhöhte Selektivität auf und sind bezüglich des Integrins $\alpha_{IIb}\beta_3$ mindestens um den Faktor 10 weniger wirksam, bevorzugt mindestens um den Faktor 20 100.

Für eine Vielzahl von Verbindungen, wie anti- $\alpha_v\beta_3$ monoklonale Antikörper, Peptide, die die RGD-Bindungssequenz enthalten, natürliche, RGD-enthaltenden Proteine (z.B. Disintegrine) und 25 niedermolekulare Verbindungen ist eine Integrin $\alpha_v\beta_3$ antagonistische Wirkung gezeigt und ein positiver in vivo Effekt nachgewiesen worden (FEBS Letts 1991, 291, 50-54; J. Biol. Chem. 1990, 265, 12267-12271; J. Biol. Chem. 1994, 269, 20233-20238; J. Cell Biol 1993, 51, 206-218; J. Biol. Chem. 1987, 262, 30 17703-17711; Bioorg. Med. Chem. 1998, 6, 1185-1208).

Ferner sind $\alpha_v\beta_3$ -Antagonisten mit einem tricyclischen Molekülgerüst bekannt.

35 WO 9915508-A1, WO 9830542-A1 und WO 9701540-A1 beschreiben Dibenzocycloheptan-Derivate, WO 9911626-A1 beschreibt Dibenzo-[1,4]oxazepin-Derivate und WO 9905107-A1 Benzocycloheptan-Derivate.

40 Der Erfindung lag die Aufgabe zugrunde, neue Integrinrezeptorantagonisten mit vorteilhaften Eigenschaften zur Verfügung zu stellen.

Dementsprechend wurden Verbindungen der Formel I gefunden

45

wobei B, G und L folgende Bedeutung haben:

L ein Strukturelement der Formel I_L

5

-U-T

I_L

wobei

10 T eine Gruppe COOH oder einen zu COOH hydrolysebaren Rest und

-U- -(X_L)_a-(CR_L¹R_L²)_b-, -CR_L¹=CR_L²-, Ethinylen oder =CR_L¹- bedeuten, wobei

15 a 0 oder 1,

b 0, 1 oder 2

20 X_L CR_L³R_L⁴, NR_L⁵, Sauerstoff oder Schwefel,

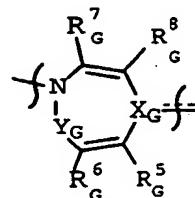
25 R_L¹, R_L², R_L³, R_L⁴ unabhängig voneinander Wasserstoff, -T, -OH, -NR_L⁶R_L⁷, -CO-NH₂, einen Halogenrest, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-, C₂-C₆-Alkenyl-, C₂-C₆-Alkinyl-, C₃-C₇- Cycloalkyl-, -CO-NH(C₁-C₆-Alkyl), -CO-N(C₁-C₆-Alkyl)₂ oder C₁-C₄-Alkoxyrest, einen gegebenenfalls substituierten Rest C₁-C₂-Alkylen-T, C₂-Alkenylen-T oder C₂-Alkinylen-T, einen gegebenenfalls substituierten Aryl- oder Arylalkylrest oder jeweils unabhängig voneinander zwei Reste R_L¹ und R_L² oder R_L³ und R_L⁴ oder gegebenenfalls R_L¹ und R_L³ zusammen einen, gegebenenfalls substituierten 3 bis 7gliedrigen gesättigten oder ungesättigten Carbocyclus oder Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann,

30 R_L⁵, R_L⁶, R_L⁷ unabhängig voneinander Wasserstoff, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-, C₃-C₇-Cycloalkyl-, CO-O-C₁-C₆-Alkyl-, SO₂-C₁-C₆-Alkyl- oder CO-C₁-C₆-Alkylrest oder einen, gegebenenfalls substituierten CO-O-Alkylen-Aryl-, SO₂-Aryl-, CO-Aryl, SO₂-Alkylen-Aryl- oder CO-Alkylen-Arylrest,

40 45 bedeuten,

G ein Strukturelement der Formel I_G

5

I_G

wobei

10

der Einbau des Strukturelements G in beiden Orientierungen erfolgen kann und

15

X_G Stickstoff oder CR_G¹ für den Fall, daß Strukturelement G mit Strukturelement L oder B über X_G über eine Einfachbindung verbunden ist

oder

20

Kohlenstoff für den Fall, daß Strukturelement G mit Strukturelement L über X_G über eine Doppelbindung verbunden ist,

25

Y_G CO, CS, C=NR_G² oder CR_G³R_G⁴,

wobei

30

R_G¹ Wasserstoff, Halogen, eine Hydroxy-Gruppe oder einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl- oder C₁-C₄-Alkoxyrest,

35

R_G² Wasserstoff, eine Hydroxy-Gruppe, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-, C₁-C₄-Alkoxy-, C₃-C₇-Cycloalkyl- oder -O-C₃-C₇-Cycloalkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten Aryl-, -O-Aryl, Arylalkyl- oder -O-Alkylen-Arylrest und

40

R_G³, R_G⁴unabhängig voneinander Wasserstoff oder einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-, C₂-C₆-Alkenyl-, C₂-C₆-Alkinyl- oder C₁-C₄-Alkoxyrest oder beide Reste R_G³ und R_G⁴ zusammen ein cyclisches Acetal -O-CH₂-CH₂-O- oder -O-CH₂-O- oder beide Reste R_G³ und R_G⁴ zusammen einen, gegebenenfalls substituierten C₃-C₇-Cycloalkylrest,

45

bedeuten,

$R_G^5, R_G^6, R_G^7, R_G^8$

5 unabhängig voneinander Wasserstoff, eine Amino- oder Hydroxygruppe, einen Rest $HN-CO-R_G^9$, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1-C_6 -Alkyl- oder C_1-C_4 -Alkoxyrest, einen gegebenenfalls substituierten Aryl- oder Arylalkylrest oder unabhängig voneinander jeweils zwei Reste R_G^5 und R_G^6 oder R_G^7 und R_G^8 zusammen einen, gegebenenfalls substituierten, anelierten, ungesättigten oder aromatischen 3- bis 6-gliedrigen Carbocyclus oder Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann, und

10 15 R_G^9 einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1-C_6 -Alkyl- oder C_1-C_4 -Alkoxyrest oder einen gegebenenfalls substituierten Aryl-, Hetaryl-, Arylalkyl- oder Hetarylalkylrest

20 bedeuten,

25 B ein Strukturelement, enthaltend mindestens ein Atom das unter physiologischen Bedingungen als Wasserstoff-Akzeptor Wasserstoffbrücken ausbilden kann, wobei mindestens ein Wasserstoff-Akzeptor-Atom entlang des kürzestmöglichen Weges entlang des Strukturelementgerüstes einen Abstand von 4 bis 13 Atombindungen zu Strukturelement G aufweist,

30 sowie die physiologisch verträglichen Salze, Prodrugs und die enantiomerenreinen oder diastereomerenreinen und tautomeren Formen.

35 In Strukturelement L wird unter T eine Gruppe COOH oder ein zu COOH hydrolysefähiger Rest verstanden. Unter einem zu COOH hydrolysefähigen Rest wird ein Rest verstanden, der nach Hydrolyse in eine Gruppe COOH übergeht.

40 Beispielhaft sei für einen zu COOH hydrolysefähigen Rest T die Gruppe



45 erwähnt, in der R^1 die folgende Bedeutung hat:

a) OM, wobei M ein Metallkation, wie ein Alkalimetallkation, wie Lithium, Natrium, Kalium, das Äquivalent eines Erdalkalimetallkations, wie Calcium, Magnesium und Barium oder ein umweltverträgliches organisches Ammoniumion wie beispielsweise primäres, sekundäres, tertiäres oder quartäres C₁-C₄-Alkylammonium oder Ammoniumion sein kann, wie beispielsweise ONa, OK oder OLi,

b) ein verzweigter oder unverzweigter, gegebenenfalls mit Halogen substituierter C₁-C₈-Alkoxyrest, wie beispielsweise Methoxy, Ethoxy, Propoxy, 1-Methylethoxy, Butoxy, 1-Methylpropoxy, 2-Methylpropoxy, 1,1-Dimethylethoxy, insbesondere Methoxy, Ethoxy, 1-Methylethoxy, Pentoxy, Hexoxy, Heptoxy, Octoxy, Difluormethoxy, Trifluormethoxy, Chlordifluormethoxy, 1-Fluorethoxy, 2-Fluorethoxy, 2,2-Difluorethoxy, 1,1,2,2-Tetrafluorethoxy, 2,2,2-Trifluorethoxy, 2-Chlor-1,1,2-trifluorethoxy oder Pentafluorethoxy

c) ein verzweigter oder unverzweigter, gegebenenfalls mit Halogen substituierten C₁-C₄-Alkylthiorest wie Methylthio, Ethylthio, Propylthio, 1-Methylethylthio, Butylthio, 1-Methylpropylthio, 2-Methylpropylthio oder 1,1-Dimethylethylthiorest

d) ein gegebenenfalls substituierter -O-Alkylen-Arylrest, wie beispielsweise -O-Benzyl

e) R¹ ferner ein Rest -(O)_m-N(R¹⁸)(R¹⁹), in dem m für 0 oder 1 steht und R¹⁸ und R¹⁹, die gleich oder unterschiedlich sein können, die folgende Bedeutung haben:

Wasserstoff,

einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkylrest, wie beispielsweise Methyl, Ethyl, Propyl, 1-Methylethyl, Butyl, 1-Methylpropyl, 2-Methylpropyl, 1,1-Dimethylethyl, Pentyl, 1-Methylbutyl, 2-Methylbutyl, 1,2-Dimethylpropyl, 1,1-Dimethylpropyl, 2,2-Dimethylpropyl, 1-Ethylpropyl, Hexyl, 1-Methylpentyl, 1,2-Dimethylbutyl, 1,3-Dimethylbutyl, 2,3-Dimethylbutyl, 1,1-Dimethylbutyl, 2,2-Dimethylbutyl, 3,3-Dimethylbutyl, 1,1,2-Trimethylpropyl, 1,2,2-Trimethylpropyl, 1-Ethylbutyl, 2-Ethylbutyl oder 1-Ethyl-2-methylpropyl oder die entsprechenden substituierten Reste, vorzugsweise Methyl, Ethyl, Propyl, Butyl oder i-Butyl,

C₂-C₆-Alkenylrest, wie beispielsweise Vinyl, 2-Propenyl,
 2-Butenyl, 3-Butenyl, 1-Methyl-2-propenyl, 2-Methyl-2-
 propenyl, 2-Pentenyl, 3-Pentenyl, 4-Pentenyl, 1-Methyl-2-
 butenyl, 2-Methyl-2-butenyl, 3-Methyl-2-butenyl, 1-Methyl-
 5 3-butenyl, 2-Methyl-3-butenyl, 3-Methyl-3-butenyl, 1,1-Di-
 methyl-2-propenyl, 1,2-Dimethyl-2-propenyl, 1-Ethyl-2-
 propenyl, 2-Hexenyl, 3-Hexenyl, 4-Hexenyl, 5-Hexenyl,
 1-Methyl-2-pentenyl, 2-Methyl-2-pentenyl, 3-Methyl-2-
 pentenyl, 4-Methyl-2-pentenyl, 3-Methyl-3-pentenyl, 4-Methyl-
 10 3-pentenyl, 1-Methyl-4-pentenyl, 2-Methyl-4-pentenyl,
 3-Methyl-4-entenyl, 4-Methyl-4-pentenyl, 1,1-Dimethyl-2-
 butenyl, 1,1-Dimethyl-3-butenyl, 1,2-Dimethyl-2-butenyl,
 1,2-Dimethyl-3-butenyl, 1,3-Dimethyl-2-butenyl, 1,3-Di-
 15 methyl-3-butenyl, 2,2-Dimethyl-3-butenyl, 2,3-Dimethyl-2-
 butenyl, 2,3-Dimethyl-3-butenyl, 1-Ethyl-2-butenyl, 1-Ethyl-
 3-butenyl, 2-Ethyl-2-butenyl, 2-Ethyl-3-butenyl, 1,1,2-Tri-
 methyl-2-propenyl, 1-Ethyl-1-methyl-2-propenyl und 1-Ethyl-2-
 methyl-2-propenyl, insbesondere 2-Propenyl, 2-Butenyl,
 3-Methyl-2-butenyl oder 3-Methyl-2-pentenyl oder die ent-
 20 sprechenden substituierten Reste,

C₂-C₆-Alkinylrest, wie beispielsweise Ethinyl, 2-Propinyl,
 2-Butinyl, 3-Butinyl, 1-Methyl-2-propinyl, 2-Pentinyl,
 3-Pentinyl, 4-Pentinyl, 1-Methyl-3-butinyl, 2-Methyl-3-
 25 butinyl, 1-Methyl-2-butinyl, 1,1-Dimethyl-2-propinyl,
 1-Ethyl-2-propinyl, 2-Hexinyl, 3-Hexinyl, 4-Hexinyl,
 5-Hexinyl, 1-Methyl-2-pentinyl, 1-Methyl-2-pentinyl,
 1-Methyl-3-pentinyl, 1-Methyl-4-pentinyl, 2-Methyl-3-
 pentinyl, 2-Methyl-4-pentinyl, 3-Methyl-4-pentinyl,
 30 4-Methyl-2-pentinyl, 1,1-Dimethyl-2-butinyl, 1,1-Dimethyl-
 3-butinyl, 1,2-Dimethyl-3-butinyl, 2,2-Dimethyl-3-butinyl,
 1-Ethyl-2-butinyl, 1-Ethyl-3-butinyl, 2-Ethyl-3-butinyl
 und 1-Ethyl-1-methyl-2-propinyl, vorzugsweise 2-Propinyl,
 2-Butinyl, 1-Methyl-2-propinyl oder 1-Methyl-2-butinyl
 35 oder die entsprechenden substituierten Reste,

C₃-C₈-Cycloalkyl, wie beispielsweise Cyclopropyl, Cyclobutyl,
 Cyclopentyl, Cyclohexyl und Cycloheptyl, Cyclooctyl oder die
 entsprechenden substituierten Reste,
 40 oder einen Phenylrest, gegebenenfalls ein- oder mehrfach,
 beispielsweise ein- bis dreifach substituiert durch Halogen,
 Nitro, Cyano, C₁-C₄-Alkyl, C₁-C₄-Halogenalkyl, C₁-C₄-Alkoxy,
 C₁-C₄-Halogenalkoxy oder C₁-C₄-Alkylthio wie beispielsweise
 45 2-Fluorphenyl, 3-Chlorphenyl, 4-Bromphenyl, 2-Methylphenyl,
 3-Nitrophenyl, 4-Cyanophenyl, 2-Trifluormethylphenyl,
 3-Methoxyphenyl, 4-Trifluorethoxyphenyl, 2-Methylthiophenyl,

2,4-Dichlorphenyl, 2-Methoxy-3-methylphenyl, 2,4-Dimethoxyphenyl, 2-Nitro-5-cyanophenyl, 2,6-Difluorphenyl,

oder R¹⁸ und R¹⁹ bilden gemeinsam eine zu einem Cyclus geschlossene, gegebenenfalls substituierte, z.B. durch C₁-C₄-Alkyl substituierte C₄-C₇-Alkylenkette, die ein Heteroatom, ausgewählt aus der Gruppe Sauerstoff, Schwefel oder Stickstoff, enthalten kann wie beispielsweise -(CH₂)₄- , -(CH₂)₅- , -(CH₂)₆- , -(CH₂)₇- , -(CH₂)₂-O-(CH₂)₂- , -CH₂-S-(CH₂)₃- , -(CH₂)₂-O-(CH₂)₃- , -NH-(CH₂)₃- , -CH₂-NH-(CH₂)₂- , -CH₂-CH=CH-CH₂- , -CH=CH-(CH₂)₃- , -CO-(CH₂)₂-CO- oder -CO-(CH₂)₃-CO- .

Bevorzugte Reste T sind -COOH, -CO-O-C₁-C₈-Alkyl oder -CO-O-
15 Benzyl.

Der Rest -U- in Strukturelement L stellt einen Spacer, ausgewählt aus der Gruppe -(X_L)_a-(CR_L¹R_L²)_b- , -CR_L¹=CR_L²- , Ethinylen oder =CR_L¹- dar. Im Fall des Restes =CR_L¹- ist das Strukturelement L 20 mit dem Strukturelement G über eine Doppelbindung verknüpft.

X_L bedeutet vorzugsweise den Rest CR_L³R_L⁴, NR_L⁵, Sauerstoff oder Schwefel.

25 Bevorzugte Reste -U- sind die Reste =CR_L¹- oder -(X_L)_a-(CR_L¹R_L²)_b- , wobei X_L vorzugsweise CR_L³R_L⁴ (a = 0 oder 1) oder Sauerstoff (a = 1) bedeutet.

Besonders bevorzugte Reste -U- sind die Reste -(X_L)_a-(CR_L¹R_L²)_b- , 30 wobei X_L vorzugsweise CR_L³R_L⁴ (a = 1) oder Sauerstoff (a = 1) bedeutet.

Unter einem Halogenrest wird unter R_L¹, R_L², R_L³ oder R_L⁴ in Strukturelement L beispielsweise F, Cl, Br oder I, vorzugsweise F 35 verstanden.

Unter einem verzweigten oder unverzweigten C₁-C₆-Alkylrest werden unter R_L¹, R_L², R_L³ oder R_L⁴ in Strukturelement L beispielsweise Methyl, Ethyl, Propyl, 1-Methylethyl, Butyl, 1-Methylpropyl, 40 2-Methylpropyl, 1,1-Dimethylethyl, Pentyl, 1-Methylbutyl, 2-Methylbutyl, 1,2-Dimethylpropyl, 1,1-Dimethylpropyl, 2,2-Dimethylpropyl, 1-Ethylpropyl, Hexyl, 1-Methylpentyl, 1,2-Dimethylbutyl, 1,3-Dimethylbutyl, 2,3-Dimethylbutyl, 1,1-Dimethylbutyl, 2,2-Dimethylbutyl, 3,3-Dimethylbutyl, 1,1,2-Trimethylpropyl, 45 1,2,2-Trimethylpropyl, 1-Ethylbutyl, 2-Ethylbutyl oder 1-Ethyl-2-methylpropyl, vorzugsweise verzweigte oder unverzweigte C₁-C₄-Alkylreste wie beispielsweise Methyl, Ethyl, Propyl,

1-Methylethyl, Butyl, 1-Methylpropyl, 2-Methylpropyl oder 1,1-Dimethylethyl, besonders bevorzugt Methyl verstanden.

Unter einem verzweigten oder unverzweigten C₂-C₆-Alkenylrest werden unter R_L¹, R_L², R_L³ oder R_L⁴ in Strukturelement L beispielsweise Vinyl, 2-Propenyl, 2-Butenyl, 3-Butenyl, 1-Methyl-2-propenyl, 2-Methyl-2-propenyl, 2-Pentenyl, 3-Pentenyl, 4-Pentenyl, 1-Methyl-2-butenyl, 2-Methyl-2-butenyl, 3-Methyl-2-butenyl, 1-Methyl-3-butenyl, 2-Methyl-3-butenyl, 3-Methyl-3-butenyl, 1,1-Dimethyl-2-propenyl, 1,2-Dimethyl-2-propenyl, 1-Ethyl-2-propenyl, 2-Hexenyl, 3-Hexenyl, 4-Hexenyl, 5-Hexenyl, 1-Methyl-2-pentenyl, 2-Methyl-2-pentenyl, 3-Methyl-2-pentenyl, 4-Methyl-2-pentenyl, 3-Methyl-3-pentenyl, 4-Methyl-3-pentenyl, 1-Methyl-4-pentenyl, 2-Methyl-4-pentenyl, 3-Methyl-4-entenyl, 4-Methyl-4-pentenyl, 1,1-Dimethyl-2-butenyl, 1,1-Dimethyl-3-butenyl, 1,2-Dimethyl-2-butenyl, 1,2-Dimethyl-3-butenyl, 1,3-Dimethyl-2-butenyl, 1,3-Dimethyl-3-butenyl, 2,2-Dimethyl-3-butenyl, 2,3-Dimethyl-2-butenyl, 2,3-Dimethyl-3-butenyl, 1-Ethyl-2-butenyl, 1-Ethyl-3-butenyl, 2-Ethyl-2-butenyl, 2-Ethyl-3-butenyl, 1,1,2-Trimethyl-2-propenyl, 1-Ethyl-1-methyl-2-propenyl und 1-Ethyl-2-methyl-2-propenyl, insbesondere 2-Propenyl, 2-Butenyl, 3-Methyl-2-butenyl oder 3-Methyl-2-pentenyl verstanden.

Unter einem verzweigten oder unverzweigten C₂-C₆-Alkinylrest werden unter R_L¹, R_L², R_L³ oder R_L⁴ in Strukturelement L beispielsweise Ethinyl, 2-Propinyl, 2-Butinyl, 3-Butinyl, 1-Methyl-2-propinyl, 2-Pentinyl, 3-Pentinyl, 4-Pentinyl, 1-Methyl-3-butinyl, 2-Methyl-3-butinyl, 1-Methyl-2-butinyl, 1,1-Dimethyl-2-propinyl, 1-Ethyl-2-propinyl, 2-Hexinyl, 3-Hexinyl, 4-Hexinyl, 5-Hexinyl, 1-Methyl-2-pentinyl, 1-Methyl-2-pentinyl, 1-Methyl-3-pentinyl, 1-Methyl-4-pentinyl, 2-Methyl-3-pentinyl, 2-Methyl-4-pentinyl, 3-Methyl-4-pentinyl, 4-Methyl-2-pentinyl, 1,1-Dimethyl-2-butinyl, 1,1-Dimethyl-3-butinyl, 1,2-Dimethyl-3-butinyl, 2,2-Dimethyl-3-butinyl, 1-Ethyl-2-butinyl, 1-Ethyl-3-butinyl, 2-Ethyl-2-butinyl, 2-Ethyl-3-butinyl, 1,1,2-Trimethyl-2-propinyl, 1-Ethyl-1-methyl-2-propinyl und 1-Ethyl-2-methyl-2-propinyl, vorzugsweise Ethinyl, 2-Propinyl, 2-Butinyl, 1-Methyl-2-propinyl oder 1-Methyl-2-butinyl verstanden.

Unter einem verzweigten oder unverzweigten C₃-C₇-Cycloalkylrest werden unter R_L¹, R_L², R_L³ oder R_L⁴ in Strukturelement L beispielsweise Cyclopropyl, Cyclobutyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl oder Cycloheptyl verstanden.

Unter einem verzweigten oder unverzweigten C₁-C₄-Alkoxyrest werden unter R_L¹, R_L², R_L³ oder R_L⁴ in Strukturelement L beispielsweise Methoxy, Ethoxy, Propoxy, 1-Methylethoxy, Butoxy, 1-Methylpropoxy, 2-Methylpropoxy oder 1,1-Dimethylethoxy verstanden.

5

Die Reste -CO-NH(C₁-C₆-Alkyl), -CO-N(C₁-C₆-Alkyl)₂ stellen sekundäre bzw. tertiäre Amide dar und setzten sich aus der Amidbindung und den entsprechenden C₁-C₆-Alkylresten wie vorstehend für R_L¹, R_L², R_L³ oder R_L⁴ beschrieben zusammen.

10

Die Reste R_L¹, R_L², R_L³ oder R_L⁴ können weiterhin einen Rest C₁-C₂-Alkylen-T, wie beispielsweise Methylen-T oder Ethylen-T, C₂-Alkenylen-T, wie beispielsweise Ethenylen-T oder

15 C₂-Alkinylen-T, wie beispielsweise Ethinylen-T,

einen Arylrest, wie beispielsweise Phenyl, 1-Naphthyl oder 2-Naphthyl oder

20 einen Arylalkylrest, wie beispielsweise Benzyl oder Ethylenphenyl (Homobenzyl)

darstellen, wobei die Reste gegebenenfalls substituiert sein können.

25

Ferner können jeweils unabhängig voneinander zwei Reste R_L¹ und R_L² oder R_L³ und R_L⁴ oder gegebenenfalls R_L¹ und R_L³ zusammen einen, gegebenenfalls substituierten 3 bis 7gliedrigen gesättigten oder ungesättigten Carbocyclus oder Heterocyclus, der bis zu drei

30 verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann, darstellen.

Alle Reste für R_L¹, R_L², R_L³ oder R_L⁴ können gegebenenfalls substituiert sein. Für die Reste R_L¹, R_L², R_L³ oder R_L⁴ und alle weiteren,

35 nachstehenden substituierten Reste der Beschreibung kommen, wenn die Substituenten nicht näher spezifiziert sind, unabhängig von einander bis zu 5 Substituenten, beispielsweise ausgewählt aus der folgenden Gruppe in Frage:

40 -NO₂, -NH₂, -OH, -CN, -COOH, -O-CH₂-COOH, Halogen, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₄-Alkyl-, wie beispielsweise Methyl, CF₃, C₂F₅ oder CH₂F, -CO-O-C₁-C₄-Alkyl-, C₃-C₆-Cycloalkyl-, C₁-C₄-Alkoxy-, C₁-C₄-Thioalkyl-, -NH-CO-O-C₁-C₄-Alkyl, -O-CH₂-COO-C₁-C₄-Alkyl, 45 -NH-CO-C₁-C₄-Alkyl, -CO-NH-C₁-C₄-Alkyl, -NH-SO₂-C₁-C₄-Alkyl, -SO₂-NH-C₁-C₄-Alkyl, -N(C₁-C₄-Alkyl)₂, -NH-C₁-C₄-Alkyl-, oder -SO₂-C₁-C₄-Alkylrest, wie beispielsweise -SO₂-CF₃, einen gegeben-

falls substituierten -NH-CO-Aryl-, -CO-NH-Aryl-, -NH-CO-O-Aryl-, -NH-CO-O-Alkylen-Aryl-, -NH-SO₂-Aryl-, -SO₂-NH-Aryl-, -CO-NH-Benzyl-, -NH-SO₂-Benzyl- oder -SO₂-NH-Benzylrest, einen gegebenenfalls substituierten Rest -SO₂-NR²R³ oder -CO-NR²R³ wobei

5 die Reste R² und R³ unabhängig voneinander die Bedeutung wie nachstehend R_L⁵ haben können oder beide Reste R² und R³ zusammen einen 3 bis 6gliedrigen, gegebenenfalls substituierten, gesättigten, ungesättigten oder aromatischen Heterocyclus, der zusätzlich zum Ringstickstoff bis zu drei weitere verschiedene oder gleiche

10 Heteroatome O, N, S enthalten kann, und gegebenenfalls zwei an diesem Heterocyclus substituierte Reste zusammen einen anelierten, gesättigten, ungesättigten oder aromatischen Carbocyclus oder Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann darstellen und der

15 Cyclus gegebenenfalls substituiert oder an diesem Cyclus ein weiterer, gegebenenfalls substituierter Cyclus ankondensiert sein kann.

Wenn nicht näher spezifiziert, können bei allen endständig 20 gebundenen, substituierten Hetarylresten der Beschreibung zwei Substituenten einen anelierten 5- bis 7 gliedrigen, ungesättigten oder aromatischen Carbocyclus bilden.

Bevorzugte Reste R_L¹, R_L², R_L³ oder R_L⁴ sind unabhängig voneinander Wasserstoff, Halogen, ein verzweigter oder unverzweigter, gegebenenfalls substituierter C₁-C₄-Alkyl-, C₁-C₄-Alkoxy-, oder C₃-C₇-Cycloalkylrest oder der Rest -NR_L⁶R_L⁷.

Besonders bevorzugte Reste R_L¹, R_L², R_L³ oder R_L⁴ sind unabhängig 30 voneinander Wasserstoff, Fluor oder ein verzweigter oder unverzweigter, gegebenenfalls substituierter C₁-C₄-Alkylrest, vorzugsweise Methyl.

Die Reste R_L⁵, R_L⁶, R_L⁷ in Strukturelement L bedeuten unabhängig 35 voneinander Wasserstoff, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten

C₁-C₆-Alkylrest, beispielsweise wie vorstehend für R_L¹ beschrieben,

40 C₃-C₇-Cycloalkylrest, beispielsweise wie vorstehend für R_L¹ beschrieben,

CO-O-C₁-C₆-Alkyl-, SO₂-C₁-C₆-Alkyl- oder CO-C₁-C₆-Alkylrest, der 45 sich aus der Gruppe CO-O, SO₂ oder CO und beispielsweise aus den vorstehend für R_L¹ beschriebenen C₁-C₆-Alkylresten zusammensetzt,

oder einen, gegebenenfalls substituierten CO-O-Alkylen-Aryl-, SO₂-Aryl-, SO₂-Alkylen-Aryl- oder CO-Alkylen-Arylrest, der sich aus der Gruppe CO-O, SO₂, oder CO und beispielsweise aus den vorstehend für R_L¹ beschriebenen Aryl- oder Arylalkylresten zusammen-
5 setzt.

Bevorzugte Reste für R_L⁶ in Strukturelement L sind Wasserstoff, ein verzweigter oder unverzweigter, gegebenenfalls substituierter C₁-C₄-Alkyl-, CO-O-C₁-C₄-Alkyl-, CO-C₁-C₄-Alkyl- oder SO₂-C₁-C₄-
10 Alkylrest oder ein gegebenenfalls substituierter CO-O-Benzyl-, SO₂-Aryl-, SO₂-Alkylen-Aryl- oder CO-Arylrest.

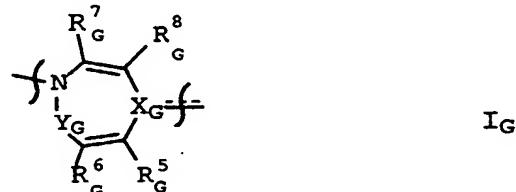
Bevorzugte Reste für R_L⁷ in Strukturelement L sind Wasserstoff oder ein verzweigter oder unverzweigter, gegebenenfalls substituierter C₁-C₄-Alkylrest.
15

Bevorzugte Strukturelemente L setzen sich aus den bevorzugten Resten des Strukturelementes zusammen.

20 Besonders bevorzugte Strukturelemente L setzen sich aus den besonders bevorzugten Resten des Strukturelementes zusammen.

G stellt ein Strukturelement der Formel I_G dar,

25



30

wobei der Einbau des Strukturelementes G in beiden Orientierungen erfolgen kann. Der Fall, daß X_G über eine Doppelbindung mit dem nächsten Strukturelement verbunden ist, gilt nur für die 35 Orientierung, bei der das Strukturelement G über X_G über eine Doppelbindung mit Strukturelement L verbunden ist. Im Fall einer Einfachbindung kann der Einbau des Strukturelements G in beiden Orientierungen erfolgen.

40 Für den Fall, daß Strukturelement G mit Strukturelement L oder B über X_G über eine Einfachbindung verbunden ist, bedeutet X_G Stickstoff oder CR_G¹.

Für den Fall, daß Strukturelement G mit Strukturelement L über X_G 45 über eine Doppelbindung verbunden ist, bedeutet X_G Kohlenstoff.

Y_G in Strukturelement G bedeutet CO, CS, C=NR_G² oder CR_G³R_G⁴, vorzugsweise CO, C=NR_G² oder CR_G³R_G⁴.

R_G¹ in Strukturelement G bedeutet Wasserstoff, Halogen, wie beispielweise, Cl, F, Br oder I, eine Hydroxy-Gruppe oder einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-, vorzugsweise C₁-C₄-Alkyl- oder C₁-C₄-Alkoxyrest beispielsweise wie jeweils vorstehend für R_L¹ beschrieben.

10 Besonders bevorzugte Reste für R_G¹ sind Wasserstoff, Methoxy oder Ethoxy.

R_G² in Strukturelement G bedeutet Wasserstoff, eine Hydroxy-Gruppe, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-, C₁-C₄-Alkoxy- oder C₃-C₇-Cycloalkylrest, beispielsweise wie jeweils vorstehend für R_L¹ beschrieben,

einen gegebenenfalls substituierten -O-C₃-C₇-Cycloalkylrest, der sich aus einer Ethergruppe und beispielsweise aus dem vorstehend 20 für R_L¹ beschriebenen C₃-C₇-Cycloalkylrest zusammensetzt,

einen gegebenenfalls substituierten Aryl- oder Arylalkylrest, beispielsweise wie jeweils vorstehend für R_L¹ beschrieben oder

25 einen gegebenenfalls substituierten -O-Aryl oder -O-Alkylen-Arylrest, der sich aus einer Gruppe -O- und beispielsweise aus den vorstehend für R_L¹ beschriebenen Aryl- bzw. Arylalkylresten zusammensetzt.

30 Unter verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-, C₂-C₆-Alkenyl-, C₂-C₆-Alkinyl- oder C₁-C₄-Alkoxyresten werden für R_G³ oder R_G⁴ in Strukturelement G unabhängig voneinander, beispielsweise die entsprechenden jeweils vorstehend für R_L¹ beschriebenen Reste verstanden.

35 Ferner können beide Reste R_G³ und R_G⁴ zusammen ein cyclisches Acetal, wie beispielsweise -O-CH₂-CH₂-O- oder -O-CH₂-O- bilden.

Weiterhin können beide Reste R_G³ und R_G⁴ zusammen einen gegebenenfalls substituierten C₃-C₇-Cycloalkylrest bilden.

Bevorzugte Reste für R_G³ oder R_G⁴ sind unabhängig voneinander Wasserstoff, C₁-C₄-Alkyl oder C₁-C₄-Alkoxy.

45 Unter verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl- oder C₁-C₄-Alkoxyresten und gegebenenfalls substituierten Aryl- oder Arylalkylresten werden für R_G⁵, R_G⁶, R_G⁷ oder R_G⁸

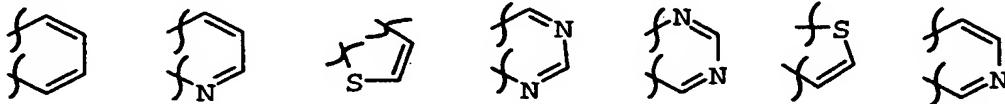
in Strukturelement G unabhängig voneinander beispielsweise die entsprechenden jeweils vorstehend für R_L^1 beschriebenen Reste verstanden.

Ferner können unabhängig voneinander jeweils zwei Reste R_G^5 und R_G^6 oder R_G^7 und R_G^8 zusammen einen, gegebenenfalls substituierten, anelierten, ungesättigten oder aromatischen 3- bis 6-gliedrigen Carbocyclus oder Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann, bilden.

10 Bevorzugte Reste für R_G^5 , R_G^6 , R_G^7 oder R_G^8 sind unabhängig von einander Wasserstoff oder gegebenenfalls substituierte Arylreste, vorzugsweise Phenyl oder Arylalkylreste, vorzugsweise Benzyl sowie jeweils zwei Reste R_G^5 und R_G^6 oder R_G^7 und R_G^8 zusammen ein, gegebenenfalls substituierter, anelierter, ungesättigter 15 oder aromatischer 3- bis 6-gliedriger Carbocyclus oder Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann.

Bei besonders bevorzugten Resten für R_G^5 , R_G^6 , R_G^7 oder R_G^8 bilden 20 unabhängig voneinander jeweils zwei Reste R_G^5 und R_G^6 oder R_G^7 und R_G^8 zusammen einen, gegebenenfalls substituierten, anelierten, ungesättigten oder aromatischen 3- bis 6-gliedrigen Carbocyclus oder Heterocyclus ausgewählt aus einer der folgenden zweifach gebundenen Strukturformeln:

25



30

Unter einem verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl- oder C₁-C₄-Alkoxyrest und einem gegebenenfalls substituierten Aryl- oder Arylalkylrest werden 35 für R_G^9 beispielsweise die entsprechenden vorstehend für R_L^1 beschriebenen Reste verstanden.

Unter einem Hetarylrest für R_G^9 werden beispielsweise Reste wie 2-Pyridyl, 3-Pyridyl, 4-Pyridyl, 2-Furyl, 3-Furyl, 2-Pyrrolyl, 40 3-Pyrrolyl, 2-Thienyl, 3-Thienyl, 2-Thiazolyl, 4-Thiazolyl, 5-Thiazolyl, 2-Oxazolyl, 4-Oxazolyl, 5-Oxazolyl, 2-Pyrimidyl, 4-Pyrimidyl, 5-Pyrimidyl, 6-Pyrimidyl, 3-Pyrazolyl, 4-Pyrazolyl, 5-Pyrazolyl, 3-Isothiazolyl, 4-Isothiazolyl, 5-Isothiazolyl, 2-Imidazolyl, 4-Imidazolyl, 5-Imidazolyl, 3-Pyridazinyl, 45 4-Pyridazinyl, 5-Pyridazinyl, 6-Pyridazinyl, 3-Isoxazol, 4-Isoxazol, 5-Isoxazol, Thiadiazol, Oxadiazol oder Triazin verstanden.

Unter substituierten Hetarylresten für R_G^9 werden, wie vorstehend allgemein für endständige, substituierte Hetarylreste beschrieben, auch anelierte Derivate der vorstehend erwähnten Hetarylreste verstanden, wie beispielsweise Indazol, Indol,

5 Benzothiophen, Benzofuran, Indolin, Benzimidazol, Benzthiazol, Benzoxazol, Chinolin oder Isochinolin.

Unter einem Hetarylalkylrest werden für R_G^9 Reste verstanden, die sich beispielsweise aus den vorstehend beschriebenen

10 C_1-C_6 -Alkylresten und aus den vorstehend beschriebenen Hetarylresten zusammensetzen, wie vorzugsweise die Reste - CH_2 -2-Pyridyl, - CH_2 -3-Pyridyl, - CH_2 -4-Pyridyl, - CH_2 -2-Thienyl, - CH_2 -3-Thienyl, - CH_2 -2-Thiazolyl, - CH_2 -4-Thiazolyl, CH_2 -5-Thiazolyl, - CH_2 - CH_2 -2-Pyridyl, - CH_2 - CH_2 -3-Pyridyl, - CH_2 - CH_2 -4-Pyridyl,

15 - CH_2 - CH_2 -2-Thienyl, - CH_2 - CH_2 -3-Thienyl, - CH_2 - CH_2 -2-Thiazolyl, - CH_2 - CH_2 -4-Thiazolyl, oder - CH_2 - CH_2 -5-Thiazolyl.

Bevorzugte Strukturelemente G setzen sich aus den bevorzugten Resten des Strukturelementes zusammen.

20

Besonders bevorzugte Strukturelemente G setzen sich aus den besonders bevorzugten Resten des Strukturelementes zusammen.

Unter Strukturelement B wird ein Strukturelement verstanden, enthaltend mindestens ein Atom das unter physiologischen Bedingungen als Wasserstoff-Akzeptor Wasserstoffbrücken ausbilden kann, wobei mindestens ein Wasserstoff-Akzeptor-Atom entlang des kürzestmöglichen Weges entlang des Strukturelementgerüstes einen Abstand von 4 bis 13 Atombindungen zu Strukturelement G aufweist. Die

30 Ausgestaltung des Strukturgerüstes des Strukturelementes B ist weit variabel.

Als Atome, die unter physiologischen Bedingungen als Wasserstoff-Akzeptoren Wasserstoffbrücken ausbilden können, kommen beispielsweise Atome mit Lewisbaseneigenschaften in Frage, wie beispielsweise die Heteroatome Stickstoff, Sauerstoff oder Schwefel.

Unter physiologischen Bedingungen wird ein pH-Wert verstanden, der an dem Ort in einem Organismus herrscht, an dem die Liganden

40 mit den Rezeptoren in Wechselwirkung treten. Im vorliegenden Fall weisen die physiologischen Bedingungen einen pH-Wert von beispielsweise 5 bis 9 auf.

In einer bevorzugten Ausführungsform bedeutet das Strukturelement

45 B ein Strukturelement der Formel I_B

wobei A und E folgende Bedeutung haben:

5 A ein Strukturelement ausgewählt aus der Gruppe:

ein 5- bis 7-gliedriger monocyclischer gesättigter, ungesättigter oder aromatischer Ring mit 0 bis 4 Heteroatomen, ausgewählt aus der Gruppe O, N oder S, wobei jeweils unabhängig voneinander der gegebenenfalls enthaltene Ring-Stickstoff oder alle Kohlenstoffe substituiert sein können, mit der Maßgabe daß mindestens ein Heteroatom, ausgewählt aus der Gruppe O, N oder S im Strukturelement A enthalten ist,

15 oder

ein 9- bis 14-gliedriges polycyclisches gesättigtes, ungesättigtes oder aromatisches System mit bis zu 6 Heteroatomen, ausgewählt aus der Gruppe N, O oder S, wobei jeweils unabhängig voneinander der gegebenenfalls enthaltene Ring-Stickstoff oder alle Kohlenstoffe substituiert sein können, mit der Maßgabe daß mindestens ein Heteroatom, ausgewählt aus der Gruppe O, N oder S im Strukturelement A enthalten ist,

25 oder

ein Rest

30



wobei

35 Z_A¹ Sauerstoff, Schwefel oder gegebenenfalls substituierter Stickstoff und

40 Z_A² gegebenenfalls substituierten Stickstoff, Sauerstoff oder Schwefel

bedeuten,

und

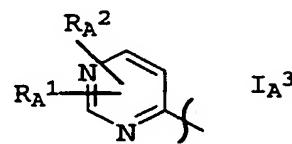
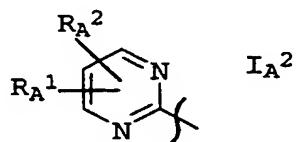
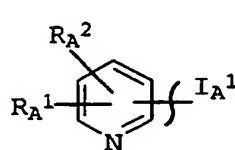
45

E ein Spacer-Strukturelement, das Strukturelement A mit dem Strukturelement G kovalent verbindet, wobei die Anzahl der Atombindungen entlang des kürzestmöglichen Weges entlang des Strukturelementgerüstes E 4 bis 12 beträgt.

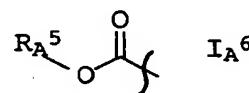
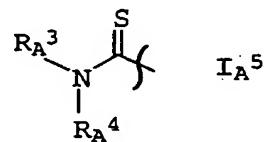
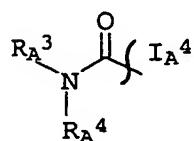
5

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bedeutet das Strukturelement A ein Strukturelement ausgewählt aus der Gruppe der Strukturelemente der Formeln I_A¹ bis I_A¹⁸,

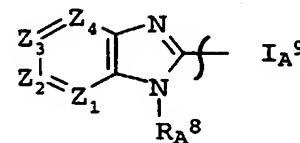
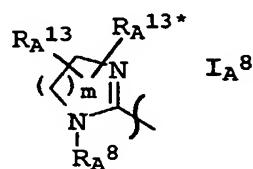
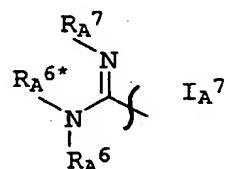
10



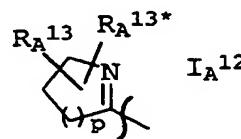
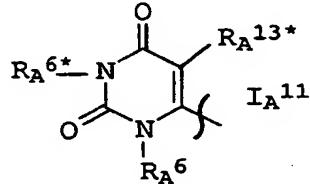
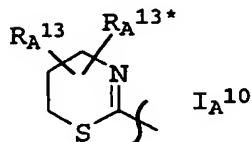
15



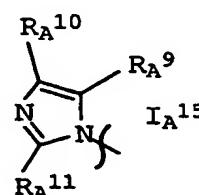
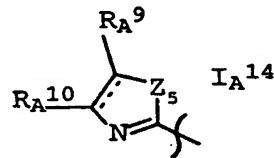
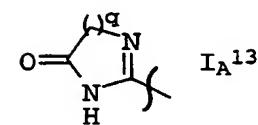
20



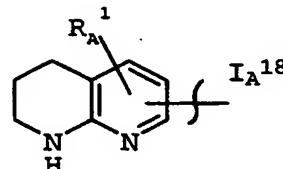
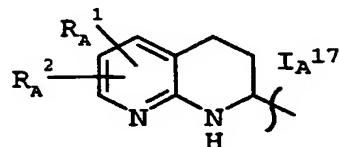
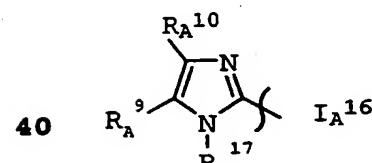
25



30



35



wobei

45

m, p, q

unabhängig voneinander 1, 2 oder 3,

5 R_A^1, R_A^2
 unabhängig voneinander Wasserstoff, CN, Halogen,
 einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls
 substituierten C_1-C_6 -Alkyl- oder $CO-C_1-C_6$ -Alkylrest oder
 einen gegebenenfalls substituierten Aryl-, Arylalkyl-,
 Hetaryl-, Hetarylalkyl- oder C_3-C_7 -Cycloalkylrest oder
 10 einen Rest $CO-O-R_A^{14}$, $O-R_A^{14}$, $S-R_A^{14}$, $NR_A^{15}R_A^{16}$, $CO-NR_A^{15}R_A^{16}$
 oder $SO_2NR_A^{15}R_A^{16}$ oder beide Reste R_A^1 und R_A^2 zusammen
 einen anelierten, gegebenenfalls substituierten, 5- oder
 6-gliedrigen, ungesättigten oder aromatischen Carbocyclus
 15 oder Heterocyclus der bis zu drei Heteroatome, ausgewählt
 aus der Gruppe O, N, oder S enthalten kann,

20 R_A^{13}, R_A^{13*}
 unabhängig voneinander Wasserstoff, CN, Halogen, einen
 verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substi-
 tuierten C_1-C_6 -Alkylrest oder oder einen gegebenenfalls
 substituierten Aryl-, Arylalkyl-, Hetaryl-, C_3-C_7 -Cyclo-
 alkylrest oder einen Rest $CO-O-R_A^{14}$, $O-R_A^{14}$, $S-R_A^{14}$,
 $NR_A^{15}R_A^{16}$ oder $CO-NR_A^{15}R_A^{16}$,

25 wobei

30 R_A^{14} Wasserstoff, einen verzweigten oder unverzweigten,
 gegebenenfalls substituierten C_1-C_6 -Alkyl-, Alkylen-
 C_1-C_4 -Alkoxy-, C_2-C_6 -Alkenyl-, C_2-C_6 -Alkinyl- oder
 Alkylen-Cycloalkylrest oder einen gegebenenfalls
 substituierten C_3-C_7 -Cycloalkyl-, Aryl-, Arylalkyl-,
 Hetaryl- oder Hetarylalkylrest,

35 R_A^{15}, R_A^{16} ,
 unabhängig voneinander Wasserstoff, einen verzweigten
 oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten
 C_1-C_6 -Alkyl-, $CO-C_1-C_6$ -Alkyl-, $SO_2-C_1-C_6$ -Alkyl-,
 $COO-C_1-C_6$ -Alkyl-, Arylalkyl-, COO -Alkylen-Aryl-,
 SO_2 -Alkylen-Aryl- oder Hetarylalkylrest oder einen
 40 gegebenenfalls substituierten C_3-C_7 -Cycloalkyl-,
 Aryl-, CO -Aryl-, SO_2 -Aryl, Hetaryl oder CO -Hetaryl-
 rest bedeuten,

45 R_A^3, R_A^4
 unabhängig voneinander Wasserstoff, $-(CH_2)_n-(X_A)_j-R_A^{12}$,
 oder beide Reste zusammen einen 3 bis 8 gliedrigen, ge-
 sättigten, ungesättigten oder aromatischen N-Heterocyclus

der zusätzlich zwei weitere, gleiche oder verschiedene Heteroatome O, N, oder S enthalten kann, wobei der Cyclus gegebenenfalls substituiert oder an diesem Cyclus ein weiterer, gegebenenfalls substituierter, gesättigter, ungesättigter oder aromatischer Cyclus ankondensiert sein kann,

5

wobei

10 n 0, 1, 2 oder 3,

j 0 oder 1,

15 X_A $-SO_2-$, $-S-$, $-O-$, $-CO-$, $-O-CO-$, $-CO-O-$,
 $-CO-N(R_A^{12})-$, $-N(R_A^{12})-CO-$, $-N(R_A^{12})-SO_2-$ oder
 $-SO_2-N(R_A^{12})-$ und20 R_A^{12} Wasserstoff, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1-C_6 -Alkyl-, C_1-C_4 -Alkoxy, $-O$ -Alkylen-Aryl- oder $-O$ -Aryl-, einen primär oder gegebenenfalls sekundär oder tertiär substituierten Aminorest, einen gegebenenfalls mit C_1-C_4 -Alkyl oder Aryl substituierten C_2-C_6 -Alkinyl- oder C_2-C_6 -Alkenylrest oder einen mit bis zu drei gleichen oder verschiedenen Resten substituierten, 3-6gliedrigen, gesättigten oder ungesättigten Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann,
25 C_3-C_7 -Cycloalkyl-, Aryl- oder Heteroarylrest, wobei zwei Reste zusammen einen anelierten, gesättigten, ungesättigten oder aromatischen Carbocyclus oder Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann, darstellen können und der Cyclus gegebenenfalls substituiert oder an diesem Cyclus ein weiterer, gegebenenfalls substituierter, gesättigter, ungesättigter oder aromatischer Cyclus ankondensiert sein kann,

30

35

40

45

R_A^5 einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1-C_6 -Alkyl-, Arylalkyl-, C_3-C_7 -Cycloalkyl- oder C_1-C_6 -Alkyl- C_3-C_7 -Cycloalkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten Arylrest,

R_A^6 , R_A^{6*}

Wasserstoff, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1-C_4 -Alkyl-, $-CO-O-C_1-C_4$ -Alkyl-, Arylalkyl-, $-CO-O$ -Alkylen-Aryl-, $-CO-O$ -Allyl-,

21

-CO-C₁-C₄-Alkyl-, -CO-Alkylen-Aryl-, C₃-C₇-Cycloalkyl- oder -CO-Allylrest oder in Strukturelement I_A⁷ beide Reste R_A⁶ und R_A^{6*} zusammen einen gegebenenfalls substituierten, gesättigten, ungesättigten oder aromatischen Heterocyclus, der zusätzlich zum Ringstickstoff bis zu zwei weitere verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann,

10 R_A^7 Wasserstoff, -OH, -CN, -CONH₂, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₄-Alkyl-, C₁-C₄-Alkoxy-, C₃-C₇-Cycloalkyl- oder -O-CO-C₁-C₄-Alkylrest, oder einen gegebenenfalls substituierten Arylalkyl-, -O-Alkylen-Aryl-, -O-CO-Aryl-, -O-CO-Alkylen-Aryl- oder -O-CO-Allylrest, oder beide Reste R_A⁶ und R_A⁷ zusammen einen gegebenenfalls substituierten, ungesättigten oder aromatischen Heterocyclus, der zusätzlich zum Ringstickstoff bis zu zwei weitere verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann,

15

20 R_A^8 Wasserstoff, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₄-Alkyl-, CO-C₁-C₄-Alkyl-, SO₂-C₁-C₄-Alkyl- oder CO-O-C₁-C₄-Alkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten Aryl-, CO-Aryl-, SO₂-Aryl, CO-O-Aryl, CO-Alkylen-Aryl-, SO₂-Alkylen-Aryl-, CO-O-Alkylen-Aryl- oder Alkylen-Arylrest,

25

30 R_A^9 , R_A^{10} unabhängig voneinander Wasserstoff, -CN, Halogen, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten Aryl-, Arylalkyl-, Hetaryl-, C₃-C₇-Cycloalkylrest oder einen Rest CO-O-R_A¹⁴, O-R_A¹⁴, S-R_A¹⁴, NR_A¹⁵R_A¹⁶ oder CO-NR_A¹⁵R_A¹⁶, oder beide Reste R_A⁹ und R_A¹⁰ zusammen in Strukturelement I_A¹⁴ einen 5 bis 7 gliedrigen gesättigten, ungesättigten oder aromatischen Carbocyclus oder Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann und gegebenenfalls mit bis zu drei gleichen oder verschiedenen Resten substituiert ist,

35

40 R_A^{11} Wasserstoff, -CN, Halogen, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten Aryl-, Arylalkyl-, Hetaryl-, C₃-C₇-Cycloalkylrest oder einen Rest CO-O-R_A¹⁴, O-R_A¹⁴, S-R_A¹⁴, NR_A¹⁵R_A¹⁶ oder CO-NR_A¹⁵R_A¹⁶,

5 R_A^{17} zusammen in Strukturelement I_A^{16} beide Reste R_A^9 und R_A^{17} zusammen einen 5 bis 7gliedrigen gesättigten, ungesättigten oder aromatischen Heterocyclus, der zusätzlich zum Ringstickstoff bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann und gegebenenfalls mit bis zu drei gleichen oder verschiedenen Resten substituiert ist,

10 Z^1, Z^2, Z^3, Z^4 unabhängig voneinander Stickstoff, C-H, C-Halogen oder einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituieren C-C₁-C₄-Alkyl- oder C-C₁-C₄-Alkoxyrest,

15 Z^5 NR_A^8 , Sauerstoff oder Schwefel bedeuten.

20 Unter Halogen werden für R_A^1 oder R_A^2 in den Strukturelementen I_A^1 , I_A^2 , I_A^3 oder I_A^{17} unabhängig voneinander Fluor, Chlor, Brom oder Iod verstanden.

25 Unter einem verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkylrest werden für R_A^1 oder R_A^2 unabhängig voneinander beispielsweise die entsprechenden vorstehend für R_L^1 beschriebenen Reste, vorzugsweise Methyl oder Trifluormethyl verstanden.

30 Der verzweigte oder unverzweigte, gegebenenfalls substituierte Rest CO-C₁-C₆-Alkyl setzt sich für R_A^1 oder R_A^2 in den Strukturelementen I_A^1 , I_A^2 , I_A^3 oder I_A^{17} beispielsweise aus der Gruppe CO und den vorstehenden für R_A^1 oder R_A^2 beschrieben, verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkylresten zusammen.

35 Unter gegebenenfalls substituierten Aryl-, Arylalkyl-, oder C₃-C₇-Cycloalkylresten werden für R_A^1 oder R_A^2 unabhängig voneinander beispielsweise die entsprechenden, vorstehend für R_L^1 beschriebenen, Reste verstanden.

40 Unter gegebenenfalls substituierten Hetaryl- oder Alkylhetarylresten werden für R_A^1 oder R_A^2 in den Strukturelementen I_A^1 , I_A^2 , I_A^3 oder I_A^{17} unabhängig voneinander beispielsweise die entsprechenden, vorstehend für R_G^9 beschriebenen, Reste verstanden.

45 Die gegebenenfalls substituierten Reste CO-O- R_A^{14} , O- R_A^{14} , S- R_A^{14} , $NR_A^{15}R_A^{16}$, CO- $NR_A^{15}R_A^{16}$ oder $SO_2NR_A^{15}R_A^{16}$ setzten sich für R_A^1 oder R_A^2 beispielsweise aus den Gruppen CO-O, O, S, N, CO-N bzw. SO_2 -N

und den nachstehend näher beschriebenen Resten R_A^{14} , R_A^{15} bzw. R_A^{16} zusammen.

Ferner können beide Reste R_A^1 und R_A^2 zusammen einen anelierten, 5 gegebenenfalls substituierten, 5- oder 6-gliedrigen, ungesättigten oder aromatischen Carbocyclus oder Heterocyclus der bis zu drei Heteroatome, ausgewählt aus der Gruppe O, N, oder S enthalten kann, bilden.

10 R_A^{13} und R_A^{13*} bedeuten unabhängig voneinander Wasserstoff, CN,

Halogen, wie beispielsweise Fluor, Chlor, Brom oder Iod,

15 einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkylrest, wie beispielsweise vorstehend für R_A^1 oder R_A^2 beschrieben, vorzugsweise Methyl oder Trifluormethyl oder

einen gegebenenfalls substituierten Aryl-, Arylalkyl-, Hetaryl- oder C₃-C₇-Cycloalkylrest oder einen Rest CO-O- R_A^{14} , O- R_A^{14} , S- R_A^{14} ,

20 NR_A¹⁵R_A¹⁶ oder CO-NR_A¹⁵R_A¹⁶ wie jeweils vorstehend für R_A^1 oder R_A^2 beschrieben.

Unter einem verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-, C₃-C₇-Cycloalkyl-, C₂-C₆-Alkenyl- oder 25 C₂-C₆-Alkinylrest werden für R_A^{14} in Strukturelement A beispielsweise die entsprechenden, vorstehend für R_L^1 beschriebenen, Reste verstanden.

Unter einem verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten Alkylen-Cycloalkylrest oder Alkylen-C₁-C₄-Alkoxyrest 30 werden für R_A^{14} in Strukturelement A beispielsweise Reste verstanden die sich aus den vorstehend für R_L^1 beschriebenen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkylresten und den gegebenenfalls substituierten C₃-C₇-Cyclo-35 alkylresten bzw. C₁-C₄-Alkoxyresten zusammensetzen.

Unter gegebenenfalls substituierten Aryl-, Arylalkyl-, Hetaryl- oder Alkylhetarylresten werden für R_A^{14} in Strukturelement A beispielsweise die entsprechenden, vorstehend für R_A^1 oder R_A^2 40 beschriebenen Reste verstanden.

Unter einem verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl- oder Arylalkylrest oder einem gegebenenfalls substituierten C₃-C₇-Cycloalkyl-, Aryl-, Hetaryl- oder Hetarylalkylrest werden für R_A^{15} oder R_A^{16} unabhängig von- 45

einander beispielsweise die entsprechenden, vorstehend für R_A^{14} beschriebenen Reste verstanden.

Die verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten 5 $CO-C_1-C_6-Alkyl-$, $SO_2-C_1-C_6-Alkyl-$, $COO-C_1-C_6-Alkyl-$, $COO-Alkylen-$ Aryl- oder $SO_2-Alkylen-Aryl$ reste oder die gegebenenfalls substituierten $CO-Aryl-$, SO_2-Aryl oder $CO-Hetaryl$ reste setzten sich für R_A^{15} oder R_A^{16} beispielsweise aus den entsprechenden Gruppen $-CO-$, $-SO_2-$, $-COO-$ und den entsprechend, vorstehend beschriebenen 10 verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten $C_1-C_6-Alkyl-$ oder Arylalkylresten oder den entsprechenden gegebenenfalls substituierten Aryl- oder Heteroarylresten zusammen.

Unter einem Rest $-(CH_2)_n-(X_A)_j-R_A^{12}$ wird für R_A^3 oder R_A^4 unabhängig 15 voneinander ein Rest verstanden, der sich aus den entsprechenden Resten $-(CH_2)_n-$, $(X_A)_i$ und R_A^{12} zusammensetzt. Dabei kann n : 0, 1, 2 oder 3 und j : 0 oder 1 bedeuten.

X_A stellt einen zweifach gebundenen Rest, ausgewählt aus der 20 Gruppe $-SO_2-$, $-S-$, $-O-$, $-CO-$, $-O-CO-$, $-CO-O-$, $-CO-N(R_A^{12})-$, $-N(R_A^{12})-CO-$, $-N(R_A^{12})-SO_2-$ und $-SO_2-N(R_A^{12})-$ dar.

R_A^{12} bedeutet Wasserstoff,

25 einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten $C_1-C_6-Alkyl-$ oder $C_1-C_4-Alkoxy$, wie vorstehend für R_L^1 beschrieben,

einen gegebenenfalls substituierten $-O-Alkylen-Aryl-$ oder $-O-$ 30 Arylrest, wobei die Arylalkyl- oder Arylreste beispielsweise die vorstehend für R_L^1 beschriebene Bedeutung haben und gegebenenfalls substituiert sein können,

einen primär oder gegebenenfalls sekundär oder tertiär substituierten Aminorest, wie beispielsweise $-NH_2$, $-NH(C_1-C_6-Alkyl)$ oder 35 $-N(C_1-C_6-Alkyl)_2$ oder bei einem endständigen, einfach gebundenen Rest R_A^{12} auch beispielsweise die entsprechenden cyclischen Amine wie beispielsweise N-Pyrrolidinyl, N-Piperidinyl, N-Hexahydroazepinyl, N-Morpholinyl oder N-Piperazinyl, wobei bei Heterocyclen 40 die freie Aminprotonen tragen, wie beispielsweise N-Piperazinyl die freien Aminprotonen durch gängige Aminschutzgruppen, wie beispielsweise Methyl, Benzyl, Boc (tert.-Butoxycarbonyl), Z (Benzylloxycarbonyl), Tosyl, $-SO_2-C_1-C_4-Alkyl$, $-SO_2-Phenyl$ oder $-SO_2-Benzyl$ ersetzt sein können,

einen gegebenenfalls mit C₁-C₄-Alkyl oder Aryl substituiert n C₂-C₆-Alkinyl- oder C₂-C₆-Alkenylrest, wie beispielsweise vorstehend für R_L¹ beschrieben,

5 oder einen mit bis zu drei gleichen oder verschiedenen Resten substituierten, 3-6gliedrigen, gesättigten oder ungesättigten Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann, wie beispielsweise 2-Pyridyl, 3-Pyridyl, 4-Pyridyl, 2-Furyl, 3-Furyl, 2-Pyrrolyl, 3-Pyrrolyl,
 10 2-Thienyl, 3-Thienyl, 2-Thiazolyl, 4-Thiazolyl, 5-Thiazolyl, 2-Oxazolyl, 4-Oxazolyl, 5-Oxazolyl, 2-Pyrimidyl, 4-Pyrimidyl, 5-Pyrimidyl, 6-Pyrimidyl, 3-Pyrazolyl, 4-Pyrazolyl, 5-Pyrazolyl, 3-Isothiazolyl, 4-Isothiazolyl, 5-Isothiazolyl, 2-Imidazolyl, 4-Imidazolyl, 5-Imidazolyl, 3-Pyridazinyl, 4-Pyridazinyl,
 15 5-Pyridazinyl, 6-Pyridazinyl, 2-(1,3,4-Thiadiazolyl), 2-(1,3,4)-Oxadiazolyl, 3-Isoxazolyl, 4-Isoxazolyl, 5-Isoxazolyl, Triazinyl.

Die verschiedenen Reste können, wie vorstehend allgemein
 20 beschrieben ein aneliertes System bilden.

C₃-C₇-Cycloalkyl-, Aryl- oder Heteroarylrest, wie beispielsweise vorstehend für R_A¹³ beschrieben, wobei zwei Reste zusammen einen anelierten, gesättigten, ungesättigten oder aromatischen Carbo-
 25 cyclus oder Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann, darstellen können und der Cyclus gegebenenfalls substituiert oder an diesem Cyclus ein weiterer, gegebenenfalls substituierter, gesättigter, ungesättigter oder aromatischer Cyclus ankondensiert sein kann.

30 R_A³ und R_A⁴ können ferner zusammen einen 3 bis 8gliedrigen, gesättigten, ungesättigten oder aromatischen N-Heterocyclus der zusätzlich zwei weitere, gleiche oder verschiedene Heteroatome O, N, oder S enthalten kann, bilden, wobei der Cyclus gegebenenfalls
 35 substituiert oder an diesem Cyclus ein weiterer, gegebenenfalls substituierter, gesättigter, ungesättigter oder aromatischer Cyclus ankondensiert sein kann,

R_A⁵ bedeutet einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-, Arylalkyl- oder C₃-C₇-Cycloalkylrest wie beispielsweise vorstehend für R_L¹ beschrieben oder einen C₁-C₆-Alkyl-C₃-C₇-Cycloalkylrest der sich beispielsweise aus den entsprechenden vorstehend beschriebenen Resten zusammensetzt.

45 R_A⁶ und R_A^{6*} bedeuten unabhängig voneinander Wasserstoff, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten

C_1-C_4 -Alkylrest, wie beispielsweise gegebenenfalls substituiertes Methyl, Ethyl, Propyl, 1-Methylethyl, Butyl, 1-Methylpropyl, 2-Methylpropyl oder 1,1-Dimethylethyl,

5 -CO-O- C_1-C_4 -Alkyl- oder -CO- C_1-C_4 -Alkylrest wie beispielsweise aus der Gruppe -CO-O- bzw. -CO- und den vorstehend beschriebenen C_1-C_4 -Alkylresten zusammengesetzt,

Arylalkylrest, wie vorstehend für R_L^1 beschrieben,

10 -CO-O-Alkylen-Aryl- oder -CO-Alkylen-Arylrest wie beispielsweise aus der Gruppe -CO-O- bzw. -CO- und den vorstehend beschriebenen Arylalkylresten zusammengesetzt,

15 -CO-O-Allyl- oder -CO-Allylrest,

oder C_3-C_7 -Cycloalkylrest, wie beispielsweise vorstehend für R_L^1 beschrieben.

20 Ferner können beide Reste R_A^6 und R_A^6* in Strukturelement I_A^7 zusammen einen gegebenenfalls substituierten, gesättigten, ungesättigten oder aromatischen Heterocyclus, der zusätzlich zum Ringstickstoff bis zu zwei weitere verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann, bilden.

25 R_A^7 bedeutet Wasserstoff, -OH, -CN, -CONH₂, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1-C_4 -Alkylrest, beispielsweise wie vorstehend für R_A^6 beschrieben, C_1-C_4 -Alkoxy-, Arylalkyl- oder C_3-C_7 -Cycloalkylrest, beispielsweise wie vor-

30 stehend für R_L^1 beschrieben, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten -O-CO- C_1-C_4 -Alkylrest, der sich aus der Gruppe -O-CO- und beispielsweise aus den vorstehend erwähnten C_1-C_4 -Alkylresten zusammensetzt oder einen gegebenenfalls substituierten -O-Alkylen-Aryl-, -O-CO-Aryl-, -O-CO-Alkylen-Aryl- oder

35 -O-CO-Allylrest der sich aus den Gruppen -O- bzw. -O-CO- und beispielsweise aus den entsprechenden vorstehend für R_L^1 beschriebenen Resten zusammensetzt.

40 Ferner können beide Reste R_A^6 und R_A^7 zusammen einen gegebenenfalls substituierten, ungesättigten oder aromatischen Heterocyclus, der zusätzlich zum Ringstickstoff bis zu zwei weitere verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann, bilden.

Unter einem verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1-C_4 -Alkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten Aryl-, oder Arylalkylrest werden für R_A^8 in Strukturelement A beispielsweise die entsprechenden, vorstehend für R_A^{15} beschrieben-

nen Reste verstanden, wobei sich die Reste CO-C₁-C₄-Alkyl, SO₂-C₁-C₄-Alkyl, CO-O-C₁-C₄-Alkyl, CO-Aryl, SO₂-Aryl, CO-O-Aryl, CO-Alkylen-Aryl, SO₂-Alkylen-Aryl oder CO-O-Alkylen-Aryl analog zu den anderen zusammengesetzten Resten aus der Gruppe CO, SO₂ oder 5 COO und beispielsweise aus dem entsprechenden vorstehend für R_A¹⁵ beschriebenen C₁-C₄-Alkyl-, Aryl- oder der Arylalkylresten zusammengesetzten und diese Reste gegebenenfalls substituiert sein können.

10 Unter Halogen, werden für R_A⁹ oder R_A¹⁰ unabhängig voneinander Fluor, Chlor, Brom oder Iod verstanden.

Unter einem verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten Aryl-, Arylalkyl-, Hetaryl- oder C₃-C₇-Cycloalkylrest werden jeweils für R_A⁹ oder R_A¹⁰ unabhängig voneinander beispielsweise die entsprechenden, vorstehend für R_A¹⁴ beschriebenen Reste verstanden, vorzugsweise Methyl oder Trifluormethyl.

20 Unter einem Rest CO-O-R_A¹⁴, O-R_A¹⁴, S-R_A¹⁴, NR_A¹⁵R_A¹⁶ oder CO-NR_A¹⁵R_A¹⁶ werden jeweils für R_A⁹ oder R_A¹⁰ unabhängig voneinander beispielsweise die entsprechenden, vorstehend für R_A¹³ beschriebenen Reste verstanden.

25 Ferner können beide Reste R_A⁹ und R_A¹⁰ zusammen in Strukturelement I_A¹⁴ einen 5 bis 7gliedrigen gesättigten, ungesättigten oder aromatischen Carbocyclus oder Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann und gegebenenfalls mit bis zu drei gleichen oder verschiedenen Resten 30 substituiert ist, bilden.

Unter Substituenten werden in diesem Fall insbesondere Halogen, CN, ein verzweigter oder unverzweigter, gegebenenfalls substituierter C₁-C₄-Alkylrest, wie beispielsweise Methyl oder Trifluormethyl oder die Reste O-R_A¹⁴, S-R_A¹⁴, NR_A¹⁵R_A¹⁶, CO-NR_A¹⁵R_A¹⁶ oder -((R_A⁸)HN)C=N-R_A⁷ verstanden.

Unter Halogen, werden für R_A¹¹ beispielsweise Fluor, Chlor, Brom oder Iod verstanden.

40 Unter einem verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten Aryl-, Arylalkyl-, Hetaryl-, C₃-C₇-Cycloalkylrest oder einen Rest CO-O-R_A¹⁴, O-R_A¹⁴, S-R_A¹⁴, NR_A¹⁵R_A¹⁶ oder CO-NR_A¹⁵R_A¹⁶ werden 45 für R_A¹¹ beispielsweise die entsprechenden, vorstehend für R_A⁹ beschriebenen Reste verstanden.

Ferner können in Strukturelement I_A^{16} beide Reste R_A^9 und R_A^{17} zusammen einen 5 bis 7 gliedrigen gesättigten, ungesättigten oder aromatischen Heterocyclus, der zusätzlich zum Ringstickstoff bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann und gegebenenfalls mit bis zu drei gleichen oder verschiedenen Resten substituiert ist, bilden.

Z^1 , Z^2 , Z^3 , Z^4 bedeuten unabhängig voneinander Stickstoff, C-H, C-Halogen, wie beispielsweise C-F, C-Cl, C-Br oder C-I oder einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C-C₁-C₄-Alkylrest, der sich aus einem Kohlenstoffrest und beispielsweise einem vorstehend für R_A^6 beschriebenen C₁-C₄-Alkylrest zusammensetzt oder einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C-C₁-C₄-Alkoxyrest, der sich aus einem Kohlenstoffrest und beispielsweise einem vorstehend für R_A^7 beschriebenen C₁-C₄-Alkoxyrest zusammensetzt.

Z^5 bedeutet Sauerstoff, Schwefel oder einen Rest NR_A^8 .

20 Bevorzugte Strukturelemente A setzen sich aus den bevorzugten Resten des Strukturelementes zusammen.

Besonders bevorzugte Strukturelemente A setzen sich aus den besonders bevorzugten Resten des Strukturelementes zusammen.

25 In einer bevorzugten Ausführungsform wird unter dem Spacer-Strukturelement E ein Strukturelement verstanden, daß aus einem verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten und Heteroatome enthaltenden aliphatischen C₂-C₃₀-Kohlenwasserstoffrest und/oder aus einem 4- bis 20 gliedrigen, gegebenenfalls substituierten und Heteroatome enthaltenden, aliphatischen oder aromatischen mono- oder polycyclischen Kohlenwasserstoffrest besteht.

35 In einer besonders bevorzugten Ausführungsform setzt man das Spacer-Strukturelement E aus zwei bis vier Teilstrukturelementen, ausgewählt aus der Gruppe E¹ und E² zusammen, wobei die Reihenfolge der Verknüpfung der Teilstrukturelemente beliebig ist und E¹ und E² folgende Bedeutung haben:

40

E¹ ein Teilstrukturelement der Formel I_{E1}

$-(X_E)_i-(CH_2)_c-CR_E^1R_E^2-(CH_2)_d-(Y_E)_j-$ I_{E1}

45 und

E^2 ein Teilstrukturelement der Formel I_{E2}

$-(NRE^3)_e - (CRE^4RE^5)_f - (QE)_k - (CRE^6RE^7)_g - (NRE^8)_h - I_{E2}$,

5 wobei

c, d, f, g
unabhängig voneinander 0, 1 oder 2,

10 e, h, i, k, l,
unabhängig voneinander 0 oder 1,

X_E , QE
unabhängig voneinander CO, CO-NRE⁹, S, SO, SO₂,
15 SO₂NRE⁹, CS, CS-NRE⁹, CS-O, CO-O, O-CO, O, Ethinyl,
CRE¹⁰-O-CRE¹¹, CRE¹⁰RE¹¹, C(=CRE¹⁰RE¹¹), CRE¹⁰=CRE¹¹,
CRE¹⁰(ORE¹²)-CRE¹¹, CRE¹⁰-CRE¹¹(ORE¹²) oder einen
gegebenenfalls substituierten 4 bis 11-gliedrigen mono-
oder polycyclischen aliphatischen oder aromatischen
20 Kohlenwasserstoff, der bis zu 6 Doppelbindungen und
bis zu 6 Heteroatome, ausgewählt aus der Gruppe N, O,
S, enthalten kann,

25 YE -CO-, -NRE⁹-CO-, -SO-, -SO₂-, -NRE⁹-SO₂-, -CS-,
-NRE⁹-CS-, -O-CS- oder -O-CO-

30 RE^1 , RE^2 , RE^4 , RE^5 , RE^6 , RE^7
unabhängig voneinander Wasserstoff, Halogen, eine
Hydroxygruppe, einen verzweigten oder unverzweigten,
gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-,
C₁-C₄-Alkoxy-, C₂-C₆-Alkenyl-, C₂-C₆-Alkinyl- oder
Alkylen-Cycloalkylrest, einen Rest -(CH₂)_w-RE¹³, einen
gegebenenfalls substituierten C₃-C₇-Cycloalkyl-, Aryl-,
Arylalkyl-, Hetaryl-, Hetarylalkyl-, O-Aryl- oder
35 O-Alkylen-Arylrest, oder unabhängig voneinander je-
weils zwei Reste. RE¹ und RE² oder RE⁴ und RE⁵ oder RE⁶
und RE⁷ zusammen einen 3 bis 7-gliedrigen, gegebenen-
falls substituierten, gesättigten oder ungesättigten
Carbocyclus,

40 wobei

w 0, 1, 2, 3 oder 4 bedeutet,

45 RE^3 , RE^8 , RE^9
unabhängig voneinander Wasserstoff, einen verzweigten
oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten

30

5 C₁-C₆-Alkyl-, CO-C₁-C₆-Alkyl-, CO-O-C₁-C₆-Alkyl- oder SO₂-C₁-C₆-Alkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten C₃-C₇-Cycloalkyl-, CO-O-Alkylen-Aryl-, CO-Alkylen-Aryl-, CO-Aryl, SO₂-Aryl-, CO-Hetaryl- oder SO₂-Alkylen-Arylrest,

10 R_E¹⁰, R_E¹¹

10 unabhängig voneinander Wasserstoff, eine Hydroxygruppe, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-, C₁-C₄-Alkoxy-, C₂-C₆-Alkenyl-, C₂-C₆-Alkinyl- oder Alkylen-Cycloalkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten C₃-C₇-Cycloalkyl-, Aryl-, Arylalkyl-, Hetaryl- oder Hetarylalkylrest,

15

15 R_E¹² Wasserstoff, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-, C₂-C₆-Alkenyl-, C₂-C₆-Alkinyl- oder Alkylen-Cycloalkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten C₃-C₇-Cycloalkyl-, Aryl-, Arylalkyl-, Hetaryl- oder Hetarylalkylrest,

20

25 R_E¹³ Wasserstoff, eine Hydroxygruppe, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-, C₁-C₄-Alkoxy-, -Arylalkyl, -O-Alkylen-Aryl- oder -O-Arylrest, einen primär oder gegebenenfalls sekundär oder tertiär substituierten Aminorest, einen gegebenenfalls mit C₁-C₄-Alkyl oder Aryl substituierten C₂-C₆-Alkinyl- oder C₂-C₆-Alkenylrest,

30

30 einen C₅-C₁₂-Bicycloalkyl-, C₆-C₁₈-Tricycloalkylrest, einen Rest CO-O-R_A¹⁴, oder einen mit bis zu drei gleichen oder verschiedenen Resten substituierten, 3- bis 6gliedrigen, gesättigten oder ungesättigten Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann,

35

35 C₃-C₇-Cycloalkyl-, Aryl- oder Heteroarylrest, wobei zwei Reste zusammen einen anelierten, gesättigten, ungesättigten oder aromatischen Carbocyclus oder Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann, dar-

40

40 stellen können und der Cyclus gegebenenfalls substituiert oder an diesem Cyclus ein weiterer, gegebenenfalls substituierter, gesättigter, ungesättigter oder aromatischer Cyclus ankondensiert sein kann,

45

45 bedeuten.

31

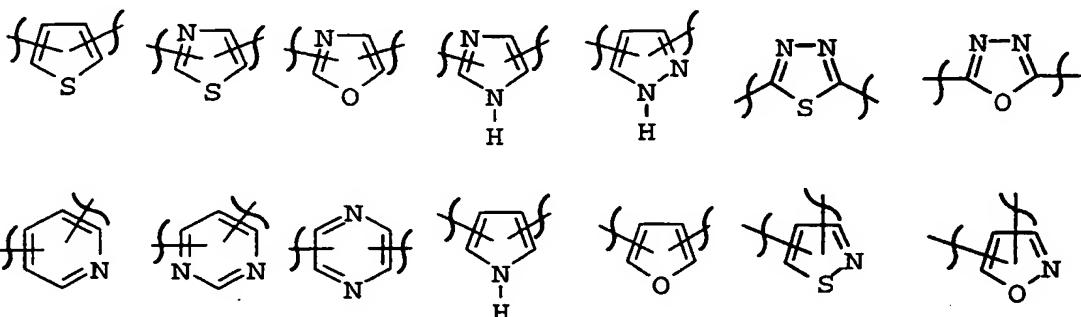
In einer noch bevorzugteren Ausführungsform wird als Spacer-Strukturelement E ein Strukturelement der Formel I_{E1E2}

-E₂-E₁-I_{E1E2}

5

verwendet.

Unter einem gegebenfalls substituierten 4 bis 11-gliedrigen mono- oder polycyclischen aliphatischen oder aromatischen Kohlenwasserstoff, der bis zu 6 Doppelbindungen und bis zu 6 Heteroatome, ausgewählt aus der Gruppe N, O, S, enthalten kann, werden für Q_E und X_E unabhängig voneinander vorzugsweise gegebenenfalls substituiertes Aryl, wie beispielsweise gegebenenfalls substituiertes Phenyl oder Naphthyl, gegebenenfalls substituiertes Hetaryl wie beispielsweise die Reste



20

25

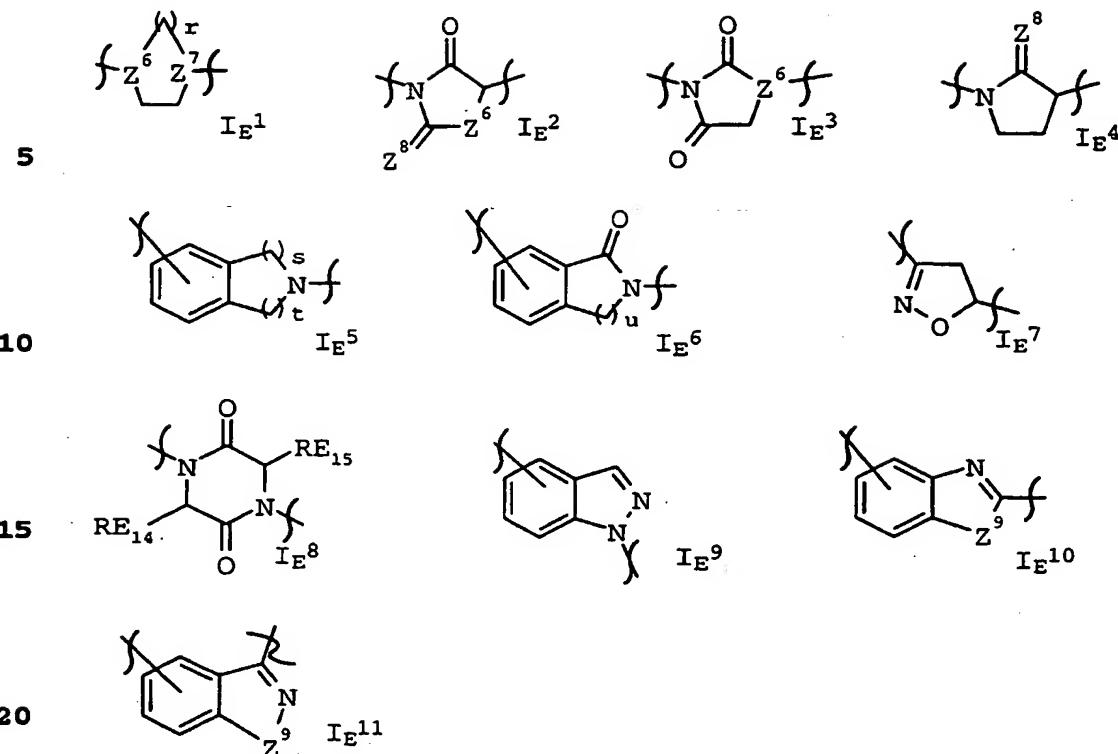
sowie deren substituierte Derivate, oder Reste der Formeln I_{E1} bis I_{E11} verstanden,

30

35

40

45



wobei der Einbau der Reste in beiden Orientierungen erfolgen kann.

Z⁶ und Z⁷ bedeuten unabhängig voneinander CH oder Stickstoff.

Z⁸ bedeutet Sauerstoff, Schwefel oder NH

30

Z⁹ bedeutet Sauerstoff, Schwefel oder NR_E¹⁶.

r und t bedeuten unabhängig voneinander 0, 1, 2 oder 3.

35 s und u bedeuten unabhängig voneinander 0, 1 oder 2.

R_E¹⁴ und R_E¹⁵ bedeuten unabhängig voneinander Wasserstoff, -NO₂, -NH₂, -CN, -COOH, eine Hydroxygruppe, Halogen einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-, 40 C₁-C₄-Alkoxy-, C₂-C₆-Alkenyl-, C₂-C₆-Alkinyl- oder Alkylen-Cycloalkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten Cycloalkyl-, Aryl-, Arylalkyl-, Hetaryl- oder Hetarylalkylrest, wie jeweils vorstehend beschrieben.

45 R_E¹⁶ bedeutet unabhängig voneinander Wasserstoff, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-, C₁-C₆-Alkoxyalkyl, C₃-C₁₂-Alkinyl, CO-C₁-C₆-Alkyl-,

CO-O-C₁-C₆-Alkyl- oder SO₂-C₁-C₆-Alkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten C₃-C₇-Cycloalkyl-, Aryl, Arylalkyl-, CO-O-Alkylen-Aryl-, CO-Alkylen-Aryl-, CO-Aryl, SO₂-Aryl-, Hetaryl, CO-Hetaryl- oder SO₂-Alkylen-Arylrest, vorzugsweise 5 Wasserstoff oder einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkylrest.

Bevorzugte Reste für Q_E sind die Reste CO, CO-NR_E⁹, S, SO, SO₂, SO₂NR_E⁹, CS, CS-NR_E⁹, CS-O, CO-O, O-CO, O, Ethinyl, CR_E¹⁰-O-CR_E¹¹, 10 CR_E¹⁰R_E¹¹, C(=CR_E¹⁰R_E¹¹), CR_E¹⁰=CR_E¹¹, CR_E¹⁰(OR_E¹²)-CR_E¹¹, CR_E¹⁰-CR_E¹¹(OR_E¹²), substituiertes Aryl oder Hetaryl, wie vorstehend beschrieben oder die Reste der Formeln I_E¹ bis I_E¹¹.

Besonders bevorzugte Reste für Q_E sind die Reste CO, CO- 15 NR_E⁹, S, SO, SO₂, SO₂NR_E⁹, CS, CS-NR_E⁹, CS-O, CO-O, O-CO, O, Ethinyl, CR_E¹⁰-O-CR_E¹¹, CR_E¹⁰R_E¹¹, C(=CR_E¹⁰R_E¹¹), CR_E¹⁰=CR_E¹¹, CR_E¹⁰(OR_E¹²)-CR_E¹¹, CR_E¹⁰-CR_E¹¹(OR_E¹²), substituiertes Aryl oder Hetaryl, wie vorstehend beschrieben oder die Reste der Formeln I_E¹, I_E⁴, I_E⁶, I_E⁷, I_E⁹ oder I_E¹⁰.

20 Bevorzugte Reste für X_E sind die Reste CO, CO-NR_E⁹, S, SO₂NR_E⁹, CS, CS-NR_E⁹, CO-O, O-CO, O, Ethinyl, CR_E¹⁰-O-CR_E¹¹, CR_E¹⁰R_E¹¹ oder CR_E¹⁰=CR_E¹¹, besonders bevorzugt sind CO, CO-NR_E⁹, SO₂NR_E⁹, O, Ethinyl, CR_E¹⁰-O-CR_E¹¹ oder CR_E¹⁰R_E¹¹.

25 Bevorzugte Reste für R_E¹ sind Wasserstoff, Fluor, Chlor oder ein Rest -(CH₂)_w-R_E¹³, wobei w 0, 1, 2, 3 oder 4 bedeutet.

Bevorzugte Reste für R_E² sind Wasserstoff, Halogen, besonders be- 30 vorzugt Chlor oder Fluor, eine Hydroxygruppe oder ein verzweigter oder unverzweigter, gegebenenfalls substituierter C₁-C₆-Alkyl- oder C₁-C₄-Alkoxyrest, besonders bevorzugt Methyl oder Ethyl.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform bilden die zwei 35 Reste R_E¹ und R_E² zusammen einen 3 bis 7-gliedrigen, gegebenenfalls substituierten, gesättigten, ungesättigten oder aromatischen Carbocyclus.

Die bevorzugten und besonders bevorzugten Reste für R_E⁴ und R_E⁶ 40 sowie für R_E⁵ und R_E⁷ sind unabhängig voneinander jeweils die gleichen wie vorstehend für R_E¹ bzw. R_E² erwähnten, entsprechenden Reste.

Auch hier können, in einer bevorzugten Ausführungsform, die Reste 45 R_E⁴ und R_E⁵ oder R_E⁶ und R_E⁷ zusammen einen 3 bis 7-gliedrigen, gegebenenfalls substituierten Carbocyclus bilden.

Bevorzugte Reste für R_E^3 sind Wasserstoff oder ein verzweigter oder unverzweigter, gegebenenfalls substituierter C_1 - C_6 -Alkylrest, besonders bevorzugt Methyl.

5 Bevorzugte Reste für R_E^8 und R_E^9 sind unabhängig voneinander Wasserstoff, ein verzweigter oder unverzweigter, gegebenenfalls substituierter C_1 - C_4 -Alkyl-, C_3 - C_7 -Cycloalkyl-, $CO-C_1-C_4$ -Alkyl-, $CO-O$ -Alkylen-Aryl-, besonders bevorzugt $CO-O$ -Benzyl-, CO -Alkylen-Aryl-, besonders bevorzugt CO -Phenyl-, $CO-O-C_1-C_4$ -

10 Alkyl-, $SO_2-C_1-C_4$ -Alkyl-, SO_2 -Aryl-, besonders bevorzugt Tosyl oder SO_2 -Alkylen-Arylrest.

Bevorzugte Reste für R_E^{10} und R_E^{11} sind unabhängig voneinander Wasserstoff, eine Hydroxygruppe, ein verzweigter oder unverzweigter, gegebenenfalls substituierter C_1 - C_6 -Alkyl-, besonders bevorzugt C_1 - C_4 -Alkyl-, oder C_1 - C_4 -Alkoxyrest oder ein gegebenenfalls substituierter Aryl-, Arylalkyl-, Hetaryl- oder Hetarylalkylrest.

Bevorzugte Reste für R_E^{12} sind unabhängig voneinander Wasserstoff, ein verzweigter oder unverzweigter, gegebenenfalls substituierter C_1 - C_6 -Alkylrest oder ein gegebenenfalls substituierter Arylalkyl- oder Hetarylalkylrest.

Unter einem verzweigten oder unverzweigten C_1 - C_6 -Alkylrest wird 25 unter R_E^{13} beispielsweise Methyl, Ethyl, Propyl, 1-Methylethyl, Butyl, 1-Methylpropyl, 2-Methylpropyl, 1,1-Dimethylethyl, Pentyl, 1-Methylbutyl, 2-Methylbutyl, 1,2-Dimethylpropyl, 1,1-Dimethylpropyl, 2,2-Dimethylpropyl, 1-Ethylpropyl, Hexyl, 1-Methylpentyl, 1,2-Dimethylbutyl, 1,3-Dimethylbutyl, 2,3-Dimethylbutyl, 1,1-Dimethylbutyl, 2,2-Dimethylbutyl, 3,3-Dimethylbutyl, 1,1,2-Tri-methylpropyl, 1,2,2-Trimethylpropyl, 1-Ethylbutyl, 2-Ethylbutyl oder 1-Ethyl-2-methylpropyl, bevorzugt Methyl, Ethyl, Propyl, Butyl, iso-Propyl, sec-Butyl und tert-Butyl verstanden.

35 Unter einem verzweigten oder unverzweigten C_1 - C_4 -Alkoxyrest wird unter R_E^{13} beispielsweise Methoxy, Ethoxy, Propoxy, 1-Methylethoxy, Butoxy, 1-Methylpropoxy, 2-Methylpropoxy oder 1,1-Dimethylethoxy, insbesondere Methoxy, Ethoxy oder 1-Methylethoxy verstanden.

40 -O-Alkylen-Aryl- oder -O-Arylreste sind beispielsweise -O-Phenyl, -O-1-Naphthyl, -O-2-Naphthyl oder -O-Benzyl.

Die C_1 - C_6 -Alkyl-, C_1 - C_4 -Alkoxyreste von R_E^{13} können mit bis zu 45 fünf gleichen oder unterschiedlichen Substituenten, wie eingangs beschrieben substituiert sein.

Unter substituierten -O-Alkylen-Aryl- oder -O-Arylresten werden beispielsweise die vorstehend erwähnten -O-Alkylen-Aryl- oder -O-Arylreste verstanden, wobei der Arylteil mit bis zu drei gleichen oder verschiedenen Substituenten, wie eingangs beschrieben 5 substituiert sein kann.

Unter einem primär oder gegebenenfalls sekundär oder tertiär substituierten Aminorest wird unter R_E^{13} in Strukturelement L ein primärer Aminorest $-\text{NH}_2$, ein sekundärer Aminorest $-\text{NH}(R_E^{131})$ 10 oder ein tertiärer Aminorest $-\text{N}(R_E^{131})(R_E^{132})$ verstanden, wobei

R_E^{131} und R_E^{132} unabhängig voneinander $C_1\text{-}C_4$ -Alkyl oder $C_3\text{-}C_6$ -Cycloalkyl, wie vorstehend erwähnt, gegebenenfalls substituiertes Aryl, vorzugsweise Phenyl, Arylalkyl, vorzugsweise Benzyl, 15 -CO- $C_1\text{-}C_4$ -Alkyl, vorzugsweise -CO-CH₃ oder -CO-Aryl, vorzugsweise -CO-Phenyl sein können.

Cyclische Aminreste ergeben sich für den Fall, daß R_E^{13} einen der nachstehend beschriebenen Heterocyclen darstellt der über 20 den Ringstickstoff gebunden ist.

Unter einem gegebenenfalls mit $C_1\text{-}C_4$ -Alkyl oder Aryl substituierten $C_2\text{-}C_6$ -Alkinyl- oder $C_2\text{-}C_6$ -Alkenylrest, werden unter R_E^{13} beispielsweise $C_2\text{-}C_6$ -Alkinylreste, wie beispielsweise Ethinyl, 25 2-Propinyl, 2-Butinyl, 3-Butinyl, 1-Methyl-, 2-Propinyl, 2-Pentinyl, 3-Pentinyl, 4-Pentinyl, 1-Methyl-3-butinyl, 2-Methyl-3-butinyl, 1-Methyl-2-butinyl, 1,1-Dimethyl-2-propinyl, 1-Ethyl-2-propinyl, 2-Hexinyl, 3-Hexinyl, 4-Hexinyl, 5-Hexinyl, 1-Methyl-2-pentinyl, 1-Methyl-2-pentinyl, 1-Methyl-3-pentinyl, 30 1-Methyl-4-pentinyl, 2-Methyl-3-pentinyl, 2-Methyl-4-pentinyl, 3-Methyl-4-pentinyl, 4-Methyl-2-pentinyl, 1,1-Dimethyl-2-butinyl, 1,1-Dimethyl-3-butinyl, 1,2-Dimethyl-3-butinyl, 2,2-Dimethyl-3-butinyl, 1-Ethyl-2-butinyl, 1-Ethyl-3-butinyl, 2-Ethyl-3-butinyl oder 1-Ethyl-1-methyl-2-propinyl, vorzugsweise 2-Propinyl oder 35 Ethinyl

oder $C_2\text{-}C_6$ -Alkenylrest, wie beispielsweise Vinyl, 2-Propenyl, 2-Butenyl, 3-Butenyl, 1-Methyl-2-propenyl, 2-Methyl-2-propenyl, 2-Pentenyl, 3-Pentenyl, 4-Pentenyl, 1-Methyl-2-butenyl, 2-Methyl-40 2-butenyl, 3-Methyl-2-butenyl, 1-Methyl-3-butenyl, 2-Methyl-3-butenyl, 3-Methyl-3-butenyl, 1,1-Dimethyl-2-propenyl, 1,2-Dimethyl-2-propenyl, 1-Ethyl-2-propenyl, 2-Hexenyl, 3-Hexenyl, 4-Hexenyl, 5-Hexenyl, 1-Methyl-2-pentenyl, 2-Methyl-2-pentenyl, 3-Methyl-2-pentenyl, 4-Methyl-2-pentenyl, 3-Methyl-3-pentenyl, 45 4-Methyl-3-pentenyl, 1-Methyl-4-pentenyl, 2-Methyl-4-pentenyl, 3-Methyl-4-pentenyl, 4-Methyl-4-pentenyl, 1,1-Dimethyl-2-butenyl, 1,1-Dimethyl-3-butenyl, 1,2-Dimethyl-2-butenyl, 1,2-Dimethyl-3-

butenyl, 1,3-Dimethyl-2-butenyl, 1,3-Dimethyl-3-butenyl, 2,2-Dimethyl-3-butenyl, 2,3-Dimethyl-2-butenyl, 2,3-Dimethyl-3-butenyl, 1-Ethyl-2-butenyl, 1-Ethyl-3-butenyl, 2-Ethyl-2-butenyl, 2-Ethyl-3-butenyl, 1,1,2-Trimethyl-2-propenyl, 1-Ethyl-1-methyl-2-propenyl oder 1-Ethyl-2-methyl-2-propenyl, insbesondere 2-Propenyl oder Vinyl

verstanden, die mit gegebenenfalls substituierten C₁-C₄-Alkylresten, oder Arylresten wie vorstehend erwähnt, vorzugsweise

10 Phenyl, substituiert sein können, wie vorzugsweise Phenylethinyl oder Phenylethenyl.

Unter einem C₅-C₁₂-Bicycloalkylrest werden für R_E¹³ beispielsweise Indanyl, Norbornyl oder Camphyl, unter einem C₆-C₁₈-Tricycloalkylrest beispielsweise Adamantyl verstanden.

Der Rest CO-O-R_A¹⁴ setzt sich, wie vorstehend mehrfach erwähnt aus der Gruppe CO-O und dem vorstehend für Strukturelement A beschriebenen Rest R_A¹⁴ zusammen.

20 Unter einem mit bis zu drei gleichen oder verschiedenen Resten substituierten, 3-6gliedrigen, gesättigten oder ungesättigten Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann, C₃-C₈-Cycloalkyl-, Aryl- oder 25 Heteroarylrest, wobei zwei Reste zusammen einen anelierten, 3- bis 7-gliedrigen, gesättigten, ungesättigten oder aromatischen Carbocyclus oder Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann, darstellen können und der Cyclus gegebenenfalls substituiert oder an diesem Cyclus ein 30 weiterer, gegebenenfalls substituierter, gesättigter, ungesättigter oder aromatischer Cyclus ankondensiert sein kann, werden für R_E¹³ beispielsweise

3- bis 6 gliedrige, gesättigte oder ungesättigten Heterocyclen, 35 die bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten können wie N-Pyrrolidinyl, N-Piperidinyl, N-Hexahydroazepinyl, N-Morpholinyl oder N-Piperazinyl, wobei bei Heterocyclen die freie Aminprotonen tragen, wie beispielsweise N-Piperazinyl die freien Aminprotonen durch gängige Aminschutzgruppen, wie beispielsweise Methyl, Benzyl, Boc (tert.-Butoxycarbonyl), Z (Benzylloxycarbonyl), Tosyl, -SO₂-C₁-C₄-Alkyl, -SO₂-Phenyl oder -SO₂-Benzyl ersetzt sein können,

40 C₃-C₇-Cycloalkylreste, wie vorstehend für R_L¹ beschrieben,

45 Arylreste, wie beispielsweise Phenyl, 1-Naphthyl oder 2-Naphthyl oder

Heteroarylreste, wie beispielsweise 2-Pyridyl, 3-Pyridyl, 4-Pyridyl, 2-Furyl, 3-Furyl, 2-Pyrrolyl, 3-Pyrrolyl, 2-Thienyl, 3-Thienyl, 2-Thiazolyl, 4-Thiazolyl, 5-Thiazolyl, 2-Oxazolyl, 4-Oxazolyl, 5-Oxazolyl, 2-Pyrimidyl, 4-Pyrimidyl, 5-Pyrimidyl, 5 6-Pyrimidyl, 3-Pyrazolyl, 4-Pyrazolyl, 5-Pyrazolyl, 3-Isothiazolyl, 4-Isothiazolyl, 5-Isothiazolyl, 2-Imidazolyl, 4-Imidazolyl, 5-Imidazolyl, 3-Pyridazinyl, 4-Pyridazinyl, 5-Pyridazinyl, 6-Pyridazinyl, 2-(1,3,4-Thiadiazolyl), 2-(1,3,4)-Oxadiazolyl, 3-Isoxazolyl, 4-Isoxazolyl, 5-Isoxazolyl 10 oder Triazinyl, vorzugsweise 2-Pyridyl, 3-Pyridyl, 4-Pyridyl, 2-Furyl, 3-Furyl, 2-Thienyl, 3-Thienyl, 2-Thiazolyl, 4-Thiazolyl oder 5-Thiazolyl,

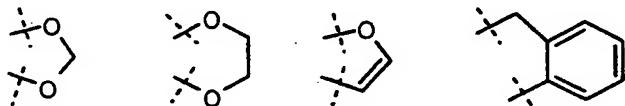
wobei die Heterocyclen-, C₃-C₇-Cycloalkyl-, Aryl- und Heteroarylreste gegebenenfalls mit bis zu drei gleichen oder verschiedenen Resten substituiert sein können.

Bevorzugte Substituenten der Heterocyclen-, C₃-C₈-Cycloalkyl-, Aryl- und Heteroarylreste für R_E¹³ sind C₁-C₄-Alkyl-, -COOH, 20 -COOMe, -CF₃, -CN, C₁-C₄-Alkoxy-, -SCH₃, -O-CH₂-COOH, -Phenyl, -SO₂CH₃, -NO₂, -OH, -NH₂, -N-Pyrrolidinyl-, -N-Piperidinyl, -N-Morpholinyl, -N-Piperazinyl, -NH-C₁-C₄-Alkyl, -N(C₁-C₄-Alkyl)₂, F, Cl, Br oder I.

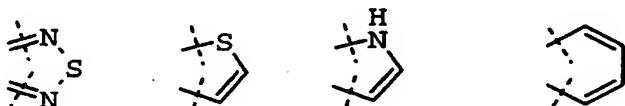
25 Bei den Hetarylresten können auch zwei Reste zusammen, wie vorstehend allgemein beschrieben, ein aneliertes System bilden.

Bevorzugte Substituenten der Heterocyclen-, C₃-C₈-Cycloalkyl-, Aryl- und Heteroarylreste für R_E¹³, bei denen zwei Reste zusammen 30 einen anelierten, gesättigten, ungesättigten oder aromatischen Carbocyclus oder Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann darstellen und der Cyclus gegebenenfalls substituiert oder an diesem Cyclus ein weiterer, gegebenenfalls substituierter Cyclus ankondensiert 35 sein kann, sind folgende, zweifach gebundene Strukturelemente:

40



45



Beispiele für die sich ergebenden kondensierten Cyclussysteme für R_E^{13} sind beispielsweise die entsprechenden Dioxolanyle, Benzopyrrolyle, Benzofuryle, Benzothienyle oder Fluorenyle.

5 Bevorzugte Strukturelemente E setzen sich aus den bevorzugten Resten für Strukturelement E zusammen.

Bevorzugte Strukturelemente B setzen sich aus den bevorzugten Strukturelementen A und E zusammen.

10 Die Verbindungen der Formel I und auch die Zwischenprodukte zu ihrer Herstellung, können ein oder mehrere asymmetrische substituierte Kohlenstoffatome besitzen. Die Verbindungen können als reine Enantiomere bzw. reine Diastereomere oder 15 als deren Mischung vorliegen. Bevorzugt ist die Verwendung einer enantiomerenreinen Verbindung als Wirkstoff.

Die Verbindungen der Formel I können auch in Form von physiologisch verträglichen Salzen vorliegen.

20 Die Verbindungen der Formel I können auch als Prodrugs in einer Form vorliegen, in der die Verbindungen der Formel I unter physiologischen Bedingungen freigesetzt werden. Beispielhaft sei hier auf die Gruppe T in Strukturelement L verwiesen, die teil- 25 weise Gruppen enthält, die unter physiologischen Bedingungen zur freien Carbonsäuregruppe hydrolyzierbar sind. Es sind auch derivatisierte Strukturelemente B, bzw. A geeignet, die das Strukturelement B bzw. A unter physiologischen Bedingungen freisetzen.

30 Bei bevorzugten Verbindungen der Formel I weist jeweils eines der drei Strukturelemente B, G oder L den bevorzugten Bereich auf, während die restlichen Strukturelemente weit variabel sind.

35 Bei besonders bevorzugten Verbindungen der Formel I weisen jeweils zwei der drei Strukturelemente B, G oder L den bevorzugten Bereich auf, während die restlichen Strukturelemente weit variabel sind.

40 Bei ganz besonders bevorzugten Verbindungen der Formel I weisen jeweils alle drei Strukturelemente B, G oder L den bevorzugten Bereich auf, während das restliche Strukturelement weit variabel ist.

45 Bevorzugte Verbindungen der Formel I weisen beispielsweise das bevorzugte Strukturelement G auf, während die Strukturelemente B und L weit variabel sind.

Bei besonders bevorzugte Verbindungen der Formel I ist beispielsweise B durch das Strukturelement A-E- ersetzt und die Verbindungen weisen beispielsweise das bevorzugte Strukturelement G und das bevorzugte Strukturelement A auf, während die Strukturelemente E und L weit variabel sind.

Weitere besonders bevorzugte Verbindungen weisen beispielsweise das bevorzugte Strukturelement G und das bevorzugte Strukturelement A auf, während die Strukturelemente E und L weit variabel sind.

Ganz bevorzugte Verbindungen der Formel I bei denen A-E- für B- steht sind in der folgenden Tabelle aufgelistet, wobei „Verbindung“ für die Nummer einer individualisierten Verbindungen der Formel I steht, und die Bedeutung der Abkürzungen der Strukturelemente nach der Tabelle erläutert wird.

Verbindung	Strukturelemente A-E-G-L
20	1 2pmhs-am2-pheac-es
	2 2pmhs-dibema2-phec-gs
	3 2pmhs-edia2-phec-es
	4 2py-25thima2-pheaz-es
25	5 2py-25thima2-phec-es
	6 2py-35thima2-pheaz-es
	7 2py-35thima2-phec-es
	8 2py-42thiaz2-pheaz-es
30	9 2py-42thiaz2-phec-es
	10 2py-aaf-pheaz-es
	11 2py-aaf-phec-es
	12 2py-am2-8mephec-es
35	13 2py-am2-8mephec-gs
	14 2py-am2-8mephec-ps
	15 2py-am2-deophec-es
	16 2py-am2-deophec-gs
40	17 2py-am2-deophec-ps
	18 2py-am2-pheaz-es
	19 2py-am2-pheaz-ps
	20 2py-am2-phec-es
45	21 2py-am2-phec-gs
	22 2py-am2-phec-ps
	23 2py-am2-thioph-es
	24 2py-am2-thioph-gs

Verbindung	Strukturelemente A-E-G-L
25	2py-am2-thioph-ps
26	2py-aof-pheaz-es
5 27	2py-aof-phec-es
28	2py-buta-pheaz-es
29	2py-buta-phec-es
10 30	2py-chex2-pheaz-es
31	2py-chex2-phec-es
15 32	2py-dibema2-23dimephec-es
33	2py-dibema2-27dimeophec-es
34	2py-dibema2-2mephec-es
15 35	2py-dibema2-49dimeophec-es
36	2py-dibema2-5claz-es
37	2py-dibema2-69dimeophec-es
38	2py-dibema2-69dimephec-es
20 39	2py-dibema2-78dic1phec-es
40	2py-dibema2-78dimeophec-es
41	2py-dibema2-8mephec-es
42	2py-dibema2-8mephec-gs
25 43	2py-dibema2-8mephec-ps
44	2py-dibema2-8mepyaz-es
45	2py-dibema2-9clphec-es
46	2py-dibema2-benz-es
47	2py-dibema2-c12phec-es
30 48	2py-dibema2-deophec-es
49	2py-dibema2-deophec-gs
50	2py-dibema2-deophec-ps
51	2py-dibema2-deothioph-es
52	2py-dibema2-dimepy-es
35 53	2py-dibema2-dimepyaz-es
54	2py-dibema2-dimethio-es
55	2py-dibema2-dmaphec-es
56	2py-dibema2-imon-es
40 57	2py-dibema2-meoaz-es
58	2py-dibema2-meophe-es
59	2py-dibema2-meophe-nes
60	2py-dibema2-meophe-f2es
45 61	2py-dibema2-mephe-gs
62	2py-dibema2-pheaz-es
63	2py-dibema2-pheaz-ps

Verbindung	Strukturelemente A-E-G-L
64	2py-dibema2-phec-es
65	2py-dibema2-phec-gs
5 66	2py-dibema2-phec-ps
67	2py-dibema2-phec-pms
68	2py-dibema2-phec-ms
69	2py-dibema2-phec-mals
10 70	2py-dibema2-phedb-as
71	2py-dibema2-phepyra-es
72	2py-dibema2-pyphc-es
73	2py-dibema2-sulfo-es
15 74	2py-dibema2-thiomet-es
75	2py-dibema2-thioph-es
76	2py-dibema2-thioph-gs
77	2py-dibema2-thioph-ps
78	2py-dibema2-thioph2-es
20 79	2py-dibema2-thiophaz-es
80	2py-edia2-8mephec-es
81	2py-edia2-8mephec-gs
82	2py-edia2-8mephec-ps
25 83	2py-edia2-deophec-es
84	2py-edia2-deophec-gs
85	2py-edia2-deophec-ps
86	2py-edia2-pheaz-es
87	2py-edia2-pheaz-ps
30 88	2py-edia2-phec-es
89	2py-edia2-phec-gs
90	2py-edia2-phec-ps
91	2py-edia2-phec-mals
35 92	2py-edia2-thioph-es
93	2py-edia2-thioph-gs
94	2py-edia2-thioph-ps
95	2py-edia2-23dimephec-es
40 96	2py-edia2-27dimeophec-es
97	2py-edia2-2mephec-es
98	2py-edia2-49dimeophec-es
99	2py-edia2-5claz-es
45 100	2py-edia2-69dimeophec-es
101	2py-edia2-69dimephec-es
102	2py-edia2-78diclphec-es

Verbindung	Strukturelemente A-E-G-L
103	2py-edia2-78dimeophec-es
104	2py-edia2-8mepyaz-es
5 105	2py-edia2-9clphec-es
106	2py-edia2-benz-es
107	2py-edia2-cl2phec-es
108	2py-edia2-deothioph-es
109	2py-edia2-dimepy-es
10 110	2py-edia2-dimepyaz-es
111	2py-edia2-dimethio-es
112	2py-edia2-dmaphec-es
113	2py-edia2-imon-es
15 114	2py-edia2-meoaz-es
115	2py-edia2-meophe-es
116	2py-edia2-meophe-nes
117	2py-edia2-meophe-f2es
20 118	2py-edia2-mephe-gs
119	2py-edia2-phec-pms
120	2py-edia2-phec-ms
121	2py-edia2-phedb-as
25 122	2py-edia2-phepyra-es
123	2py-edia2-pyphc-es
124	2py-edia2-sulfo-es
125	2py-edia2-thiomet-es
30 126	2py-edia2-thioph2-es
127	2py-edia2-thiophaz-es
128	2py-edia2-6pyme-pheaz-es
129	2py-edia2-6pyme-phec-es
35 130	2py-edia3-pheaz-es
131	2py-edia3-phec-es
132	2py-edia3-6pyme-pheaz-es
133	2py-edia3-6pyme-phec-es
40 134	2py-edia4-2oxaz-pheaz-es
135	2py-edia4-2oxaz-phec-es
136	2py-edia4-2thiaz-pheaz-es
137	2py-edia4-2thiaz-phec-es
45 138	2py-ediammebz-pheaz-es
139	2py-ediammebz-phec-es
140	2py-ediapmebz-pheaz-es
141	2py-ediapmebz-phec-es

Verbindung	Strukturelemente A-E-G-L
142	2py-hexa-pheaz-es
143	2py-hexa-phec-es
5 144	2py-inda2-pheaz-es
145	2py-inda2-phec-es
146	2py-me25thima2-pheaz-es
147	2py-me25thima2-phec-es
10 148	2py-me35thima2-pheaz-es
149	2py-me35thima2-phec-es
150	2py-me42thiaz2-pheaz-es
151	2py-me42thiaz2-phec-es
152	2py-me42pyme-pheaz-es
15 153	2py-me42pyme-phec-es
154	2py-me43-pheaz-es
155	2py-me43-phec-es
156	2py-me436pyme-pheaz-es
20 157	2py-me436pyme-phec-es
158	2py-me42oxaz-pheaz-es
159	2py-me42oxaz-phec-es
160	2py-me42thiaz-pheaz-es
25 161	2py-me42thiaz-phec-es
162	2py-meammebz-pheaz-es
163	2py-meammebz-phec-es
164	2py-meapmebz-pheaz-es
30 165	2py-meapmebz-phec-es
166	2py-mepipe2-pheaz-es
167	2py-mepipe2-phec-es
168	2py-mepyma2-pheaz-es
35 169	2py-mepyma2-phec-es
170	2py-penta-8mephec-es
171	2py-penta-8mephec-gs
172	2py-penta-8mephec-ps
173	2py-penta-deophec-es
40 174	2py-penta-deophec-gs
175	2py-penta-deophec-ps
176	2py-penta-pheaz-es
177	2py-penta-pheaz-ps
45 178	2py-penta-phec-es
179	2py-penta-phec-gs
180	2py-penta-phec-ps

Verbindung	Strukturelemente A-E-G-L
181	2py-penta-thioph-es
182	2py-penta-thioph-gs
5 183	2py-penta-thioph-ps
184	2py-pipa2-pheaz-es
185	2py-pipa2-phec-es
186	2py-pipeme2-pheaz-es
10 187	2py-pipeme2-phec-es
188	2py-pyma2-pheaz-es
189	2py-pyma2-phec-es
190	3pmhs-am2-pheac-es
15 191	3pmhs-dibema2-phec-gs
192	3pmhs-edia2-phec-es
193	4pmhs-am2-pheac-es
194	4pmhs-dibema2-phec-gs
195	4pmhs-edia2-phec-es
20 196	agua-am2-pheac-es
197	agua-dibema2-phec-gs
198	agua-edia2-phec-es
199	am2py-am2-8mephec-ps
25 200	am2py-am2-8mephec-gs
201	am2py-am2-8mephec-es
202	am2py-am2-pheac-es
203	am2py-am2-pheaz-ps
204	am2py-am2-pheaz-gs
30 205	am2py-am2-pheaz-es
206	am2py-am2-phec-ps
207	am2py-am2-phec-gs
208	am2py-am2-phec-es
35 209	am2py-am2-phec-es
210	am2py-am2-phec-gs
211	am2py-am2-thioph-ps
212	am2py-am2-thioph-gs
40 213	am2py-am2-thioph-es
214	am2py-mea42thiaz-8mephec-ps
215	am2py-mea42thiaz-8mephec-gs
216	am2py-mea42thiaz-8mephec-es
45 217	am2py-mea42thiaz-pheaz-ps
218	am2py-mea42thiaz-pheaz-gs
219	am2py-mea42thiaz-pheaz-es

Verbindung	Strukturelemente A-E-G-L
220	am2py-me42thiaz-phec-ps
221	am2py-me42thiaz-phec-gs
5 222	am2py-me42thiaz-phec-es
223	am2py-me42thiaz-thioph-ps
224	am2py-me42thiaz-thioph-gs
225	am2py-me42thiaz-thioph-es
10 226	am4py-am2-pheac-es
227	am4py-dibema2-phec-gs
228	am4py-edia2-phec-es
229	amhyd-am2-pheac-es
15 230	amhyd-am2-phec-es
231	amhyd-am2-phec-gs
232	amim-am2-pheac-es
233	amim-am2-phec-es
234	amim-am2-phec-gs
20 235	amthiz-am2-pheac-es
236	amthiz-dibema2-phec-gs
237	amthiz-edia2-phec-es
238	amtriz-am2-pheac-es
25 239	amtriz-dibema2-phec-gs
240	amtriz-edia2-phec-es
241	bgua-am2-pheac-es
242	bgua-dibema2-phec-gs
30 243	bgua-edia2-phec-es
244	bhs-25thima2-phec-gs
245	bhs-35thima2-phec-gs
246	bhs-42thiaz2-phec-gs
35 247	bhs-aaf-phec-gs
248	bhs-am2-8mephec-es
249	bhs-am2-8mephec-gs
250	bhs-am2-8mephec-ps
251	bhs-am2-deophec-es
40 252	bhs-am2-deophec-gs
253	bhs-am2-deophec-ps
254	bhs-am2-pheaz-es
255	bhs-am2-pheaz-ps
45 256	bhs-am2-phec-es
257	bhs-am2-phec-gs
258	bhs-am2-phec-ps

Verbindung	Strukturelemente A-E-G-L
259	bhs-am2-thioph-es
260	bhs-am2-thioph-gs
5 261	bhs-am2-thioph-ps
262	bhs-aof-phec-gs
263	bhs-buta-phec-gs
264	bhs-chex2-phec-gs
10 265	bhs-dibema2-23dimephec-es
266	bhs-dibema2-27dimeophec-es
267	bhs-dibema2-2mephec-es
268	bhs-dibema2-49dimeophec-es
15 269	bhs-dibema2-5claz-es
270	bhs-dibema2-69dimeophec-es
271	bhs-dibema2-69dimephec-es
272	bhs-dibema2-78diclphec-es
273	bhs-dibema2-78dimeophec-es
20 274	bhs-dibema2-8mephec-es
275	bhs-dibema2-8mephec-gs
276	bhs-dibema2-8mephec-ps
277	bhs-dibema2-8mepyaz-es
25 278	bhs-dibema2-9clphec-es
279	bhs-dibema2-benz-es
280	bhs-dibema2-cl2phec-es
281	bhs-dibema2-deophec-es
282	bhs-dibema2-deophec-gs
30 283	bhs-dibema2-deophec-ps
284	bhs-dibema2-deothioph-es
285	bhs-dibema2-dimepy-es
286	bhs-dibema2-dimepyaz-es
35 287	bhs-dibema2-dimethio-es
288	bhs-dibema2-dmaphec-es
289	bhs-dibema2-imon-es
290	bhs-dibema2-meoaz-es
40 291	bhs-dibema2-meophe-es
292	bhs-dibema2-meophe-nes
293	bhs-dibema2-meophe-f2es
294	bhs-dibema2-mephe-gs
45 295	bhs-dibema2-pheaz-es
296	bhs-dibema2-pheaz-ps
297	bhs-dibema2-phec-es

Verbindung	Strukturelemente A-E-G-L
298	bhs-dibema2-phec-gs
299	bhs-dibema2-phec-ps
300	bhs-dibema2-phec-pms
5	bhs-dibema2-phec-ms
302	bhs-dibema2-phec-mals
303	bhs-dibema2-phedb-as
10	bhs-dibema2-phepyra-es
305	bhs-dibema2-pyphc-es
306	bhs-dibema2-sulfo-es
307	bhs-dibema2-thiomet-es
15	bhs-dibema2-thioph-es
309	bhs-dibema2-thioph-gs
310	bhs-dibema2-thioph-ps
311	bhs-dibema2-thioph2-es
20	bhs-dibema2-thiophaz-es
313	bhs-edia2-8mephec-es
314	bhs-edia2-8mephec-gs
315	bhs-edia2-8mephec-ps
25	bhs-edia2-deophec-es
317	bhs-edia2-deophec-gs
318	bhs-edia2-deophec-ps
319	bhs-edia2-pheaz-es
320	bhs-edia2-pheaz-ps
30	bhs-edia2-phec-es
322	bhs-edia2-phec-gs
323	bhs-edia2-phec-ps
324	bhs-edia2-thioph-es
325	bhs-edia2-thioph-gs
35	bhs-edia2-thioph-ps
327	bhs-edia26pyme-phec-gs
328	bhs-edia3-phec-gs
329	bhs-edia36pyme-phec-gs
40	bhs-edia42oxaz-phec-gs
330	bhs-edia42thiaz-phec-gs
331	bhs-edia42thiaz-phec-gs
332	bhs-ediammebz-phec-gs
333	bhs-ediapmebz-phec-gs
45	bhs-hexa-phec-gs
335	bhs-inda2-phec-gs
336	bhs-me25thima2-phec-gs

Verbindung	Strukturelemente A-E-G-L
337	bhs-me35thima2-phec-gs
338	bhs-me42thiaz2-phec-gs
5 339	bhs-me26pyme-phec-gs
340	bhs-me3-phec-gs
341	bhs-me36pyme-phec-gs
342	bhs-me42oxaz-phec-gs
10 343	bhs-me42thiaz-phec-gs
344	bhs-meammebz-phec-gs
345	bhs-meapmebz-phec-gs
346	bhs-mepipe2-phec-gs
347	bhs-mepyma2-phec-gs
15 348	bhs-penta-8mephec-es
349	bhs-penta-8mephec-gs
350	bhs-penta-8mephec-ps
351	bhs-penta-deophec-es
20 352	bhs-penta-deophec-gs
353	bhs-penta-deophec-ps
354	bhs-penta-pheaz-es
355	bhs-penta-pheaz-ps
25 356	bhs-penta-phec-es
357	bhs-penta-phec-gs
358	bhs-penta-phec-ps
359	bhs-penta-thioph-es
360	bhs-penta-thioph-gs
30 361	bhs-penta-thioph-ps
362	bhs-pipa2-phec-gs
363	bhs-pipeme2-phec-gs
364	bhs-pyma2-phec-gs
35 365	bim-25thima2-pheaz-es
366	bim-35thima2-pheaz-es
367	bim-42thiaz2-pheaz-es
368	bim-aaf-pheaz-es
40 369	bim-am2-23dimephec-gs
370	bim-am2-27dimeophec-gs
371	bim-am2-2mephec-gs
372	bim-am2-49dimeophec-gs
45 373	bim-am2-69dimeophec-gs
374	bim-am2-69dimephec-gs
375	bim-am2-78diclphc-gs

Verbindung	Strukturelemente A-E-G-L
376	bim-am2-78dimeophec-gs
377	bim-am2-8mephec-es
378	bim-am2-8mephec-gs
379	bim-am2-8mephec-ps
380	bim-am2-9clphec-gs
381	bim-am2-c12phec-gs
382	bim-am2-deophec-es
383	bim-am2-deophec-gs
384	bim-am2-deophec-ps
385	bim-am2-deothioph-gs
386	bim-am2-dimepy-gs
387	bim-am2-dimethio-gs
388	bim-am2-dmaphec-gs
389	bim-am2-imon-gs
390	bim-am2-meophe-nes
391	bim-am2-meophe-f2es
392	bim-am2-mephe-gs
393	bim-am2-pheaz-es
394	bim-am2-pheaz-ps
395	bim-am2-phec-es
396	bim-am2-phec-gs
397	bim-am2-phec-ps
398	bim-am2-phec-pms
399	bim-am2-phec-ms
400	bim-am2-phec-mals
401	bim-am2-phedb-as
402	bim-am2-phepyra-gs
403	bim-am2-pyphc-gs
404	bim-am2-sulfo-gs
405	bim-am2-thiomet-gs
406	bim-am2-thioph-es
407	bim-am2-thioph-gs
408	bim-am2-thioph-ps
409	bim-am2-thioph2-gs
410	bim-aof-pheaz-es
411	bim-buta-pheaz-es
412	bim-chex2-pheaz-es
413	bim-dibema2-8mephec-es
414	bim-dibema2-8mephec-gs

Verbindung	Strukturelemente A-E-G-L
415	bim-dibema2-8mephec-ps
416	bim-dibema2-deophec-es
5 417	bim-dibema2-deophec-gs
418	bim-dibema2-deophec-ps
419	bim-dibema2-pheaz-es
420	bim-dibema2-pheaz-ps
10 421	bim-dibema2-phec-es
422	bim-dibema2-phec-gs
423	bim-dibema2-phec-ps
424	bim-dibema2-thioph-es
425	bim-dibema2-thioph-gs
15 426	bim-dibema2-thioph-ps
427	bim-edia2-8mephec-es
428	bim-edia2-8mephec-gs
429	bim-edia2-8mephec-ps
20 430	bim-edia2-deophec-es
431	bim-edia2-deophec-gs
432	bim-edia2-deophec-ps
433	bim-edia2-pheaz-es
25 434	bim-edia2-pheaz-ps
435	bim-edia2-phec-es
436	bim-edia2-phec-gs
437	bim-edia2-phec-ps
438	bim-edia2-thioph-es
30 439	bim-edia2-thioph-gs
440	bim-edia2-thioph-ps
441	bim-edia26pyme-pheaz-es
442	bim-edia3-pheaz-es
35 443	bim-edia36pyme-pheaz-es
444	bim-edia42oxaz-pheaz-es
445	bim-edia42thiaz-pheaz-es
446	bim-ediammebz-pheaz-es
40 447	bim-ediapmebz-pheaz-es
448	bim-hexa-pheaz-es
449	bim-inda2-pheaz-es
450	bim-me25thima2-pheaz-es
451	bim-me35thima2-pheaz-es
452	bim-me42thiaz2-pheaz-es
45 453	bim-me26pyme-pheaz-es

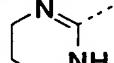
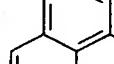
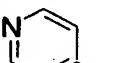
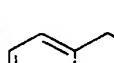
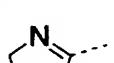
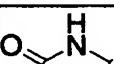
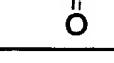
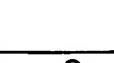
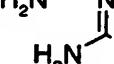
Verbindung	Strukturelemente A-E-G-L
454	bim-me a3-pheaz-es
455	bim-me a36p yme-pheaz-es
5 456	bim-me a42oxaz-pheaz-es
457	bim-me a42thiaz-pheaz-es
458	bim-me amme bz-pheaz-es
459	bim-me apme bz-pheaz-es
10 460	bim-me pipe2-pheaz-es
461	bim-me p yma2-pheaz-es
462	bim-penta-8mephec-es
463	bim-penta-8mephec-gs
15 464	bim-penta-8mephec-ps
465	bim-penta-deophec-es
466	bim-penta-deophec-gs
467	bim-penta-deophec-ps
468	bim-penta-pheaz-es
20 469	bim-penta-pheaz-ps
470	bim-penta-phec-es
471	bim-penta-phec-gs
472	bim-penta-phec-ps
25 473	bim-penta-thioph-es
474	bim-penta-thioph-gs
475	bim-penta-thioph-ps
476	bim-pipa2-pheaz-es
30 477	bim-pipeme2-pheaz-es
478	bim-p yma2-pheaz-es
479	dhim-am2-pheac-es
480	dhim-dibema2-phec-gs
481	dhim-edia2-phec-es
35 482	dhpyrr-am2-pheac-es
483	dhpyrr-dibema2-phec-gs
484	dhpyrr-edia2-phec-es
485	dhthi-am2-pheac-es
40 486	dhthi-dibema2-phec-gs
487	dhthi-edia2-phec-es
488	dimethp ym-am2-pheac-es
489	dimethp ym-dibema2-phec-gs
45 490	dimethp ym-edia2-phec-es
491	gua-am2-pheac-es
492	gua-dibema2-phec-gs

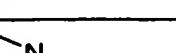
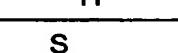
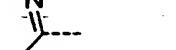
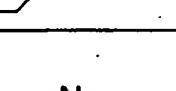
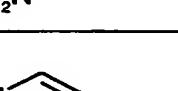
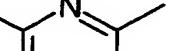
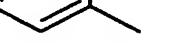
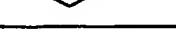
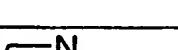
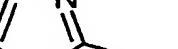
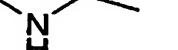
Verbindung	Strukturelemente A-E-G-L
493	gua-edia2-phec-es
494	hs-am2-pheac-es
495	hs-dibema2-phec-gs
496	hs-edia2-phec-es
497	hts-am2-pheac-es
498	hts-dibema2-phec-gs
499	hts-edia2-phec-es
500	hyd-am2-pheac-es
501	hyd-dibema2-phec-gs
502	hyd-edia2-phec-es
503	ibhs-am2-pheac-es
504	ibhs-dibema2-phec-gs
505	ibhs-edia2-phec-es
506	im-am2-pheac-es
507	im-dibema2-phec-gs
508	im-edia2-phec-es
509	imhs-am2-pheac-es
510	imhs-dibema2-phec-gs
511	imhs-edia2-phec-es
512	impy-am2-8mephec-es
513	impy-am2-8mephec-gs
514	impy-am2-8mephec-ps
515	impy-am2-deophec-es
516	impy-am2-deophec-gs
517	impy-am2-deophec-ps
518	impy-am2-pheaz-es
519	impy-am2-pheaz-ps
520	impy-am2-phec-es
521	impy-am2-phec-gs
522	impy-am2-phec-ps
523	impy-am2-thioph-es
524	impy-am2-thioph-gs
525	impy-am2-thioph-ps
526	impy-dibema2-8mephec-es
527	impy-dibema2-8mephec-gs
528	impy-dibema2-8mephec-ps
529	impy-dibema2-deophec-es
530	impy-dibema2-deophec-gs
531	impy-dibema2-deophec-ps

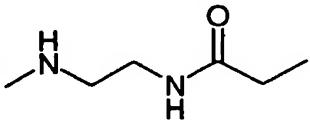
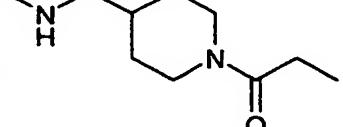
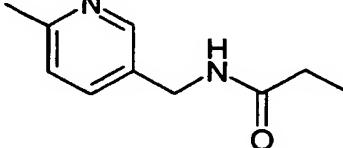
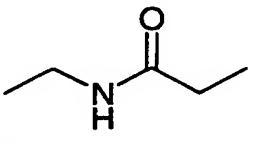
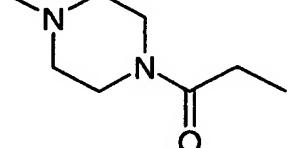
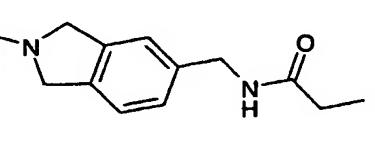
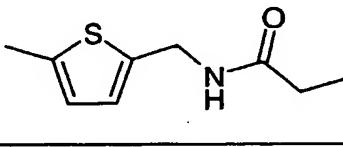
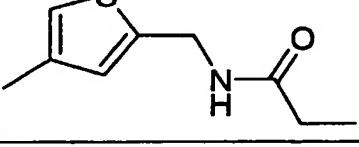
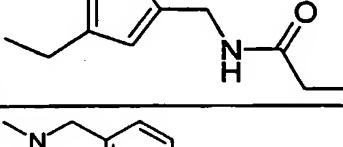
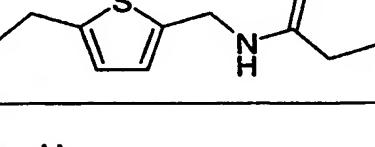
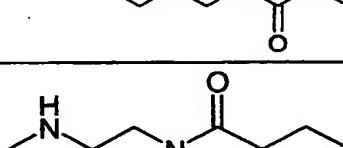
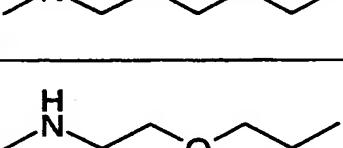
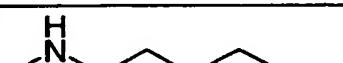
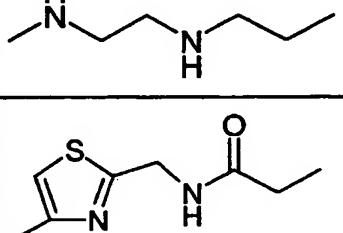
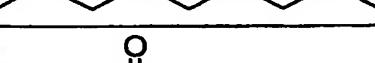
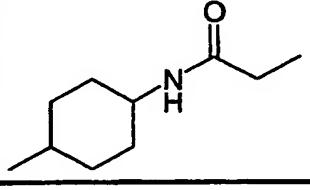
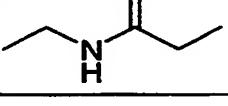
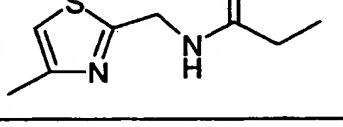
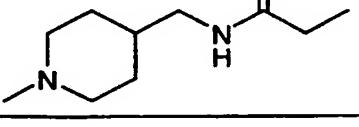
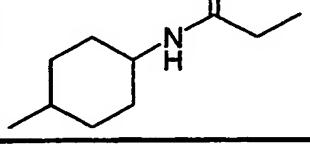
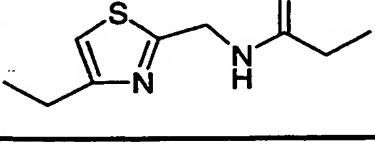
Verbindung	Strukturelemente A-E-G-L
532	impy-dibema2-pheaz-es
533	impy-dibema2-pheaz-ps
5	534 impy-dibema2-phec-es
	535 impy-dibema2-phec-gs
	536 impy-dibema2-phec-ps
10	537 impy-dibema2-thioph-es
	538 impy-dibema2-thioph-gs
	539 impy-dibema2-thioph-ps
15	540 impy-edia2-8mephec-es
	541 impy-edia2-8mephec-gs
	542 impy-edia2-8mephec-ps
20	543 impy-edia2-deophec-es
	544 impy-edia2-deophec-gs
	545 impy-edia2-deophec-ps
	546 impy-edia2-pheaz-es
25	547 impy-edia2-pheaz-ps
	548 impy-edia2-phec-es
	549 impy-edia2-phec-gs
	550 impy-edia2-phec-ps
30	551 impy-edia2-thioph-es
	552 impy-edia2-thioph-gs
	553 impy-edia2-thioph-ps
	554 impy-penta-8mephec-es
35	555 impy-penta-8mephec-gs
	556 impy-penta-8mephec-ps
	557 impy-penta-deophec-es
	558 impy-penta-deophec-gs
	559 impy-penta-deophec-ps
40	560 impy-penta-pheaz-es
	561 impy-penta-pheaz-ps
	562 impy-penta-phec-es
	563 impy-penta-phec-gs
45	564 impy-penta-phec-ps
	565 impy-penta-thioph-es
	566 impy-penta-thioph-gs
	567 impy-penta-thioph-ps
	568 mam2py-am2-pheac-es
	569 mam2py-dibema2-phec-gs
	570 mam2py-edia2-phec-es

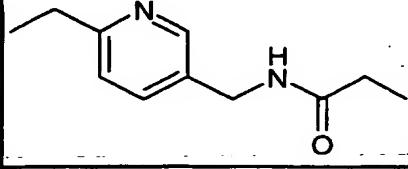
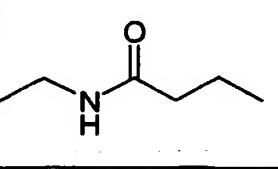
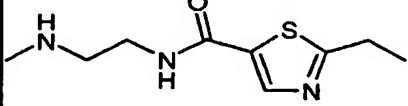
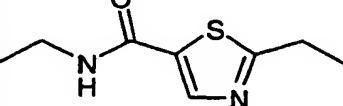
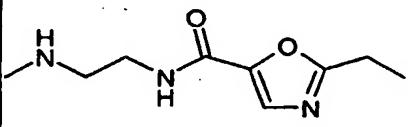
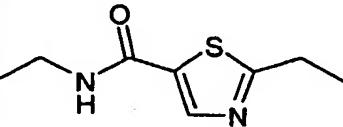
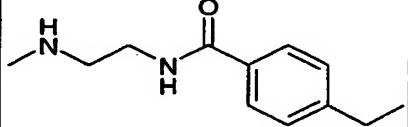
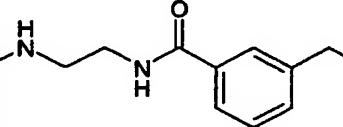
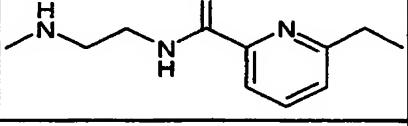
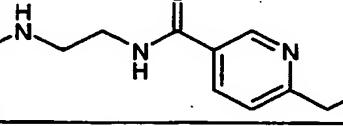
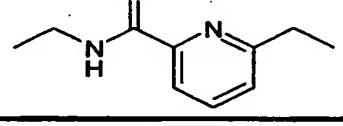
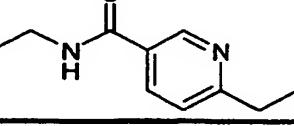
Verbindung	Strukturelemente A-E-G-L
571	nmhs-am2-pheac-es
5	572 nmhs-dibema2-phec-gs
	573 nmhs-edia2-phec-es
	574 pippy-am2-pheac-es
	575 pippy-am2-phec-es
	576 pippy-am2-phec-gs
	577 piraz-am2-pheac-es
10	578 piraz-am2-phec-es
	579 piraz-am2-phec-gs
	580 ppy-am2-pheac-es
	581 ppy-dibema2-phec-gs
	582 ppy-edia2-phec-es
	583 sabhs-am2-pheac-es
15	584 sabhs-dibema2-phec-gs
	585 sabhs-edia2-phec-es
	586 thazep-am2-pheac-es
	587 thazep-dibema2-phec-gs
	588 thazep-edia2-phec-es
	589 thiz-am2-pheac-es
20	590 thiz-dibema2-phec-gs
	591 thiz-edia2-phec-es
	592 thpy-am2-pheac-es
	593 thpy-dibema2-phec-gs
	594 thpy-edia2-phec-es
	595 thpym-am2-pheac-es
25	596 thpym-dibema2-phec-gs
	597 thpym-edia2-phec-es
	598 ur-am2-pheac-es
	599 ur-dibema2-phec-gs
	600 ur-edia2-phec-es

In der rechten Spalte der vorstehenden Tabelle steht jede Zeile für eine Verbindung. Die Abkürzungen der rechten Spalte stehen getrennt durch einen Bindungsstrich jeweils für ein Struktur-
element A, E G und L, wobei die Abkürzungen folgende Bedeutung
haben:

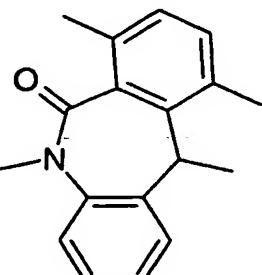
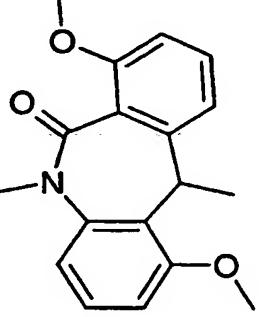
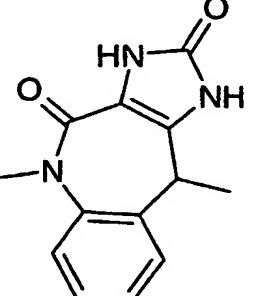
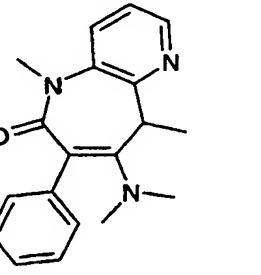
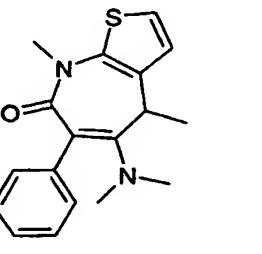
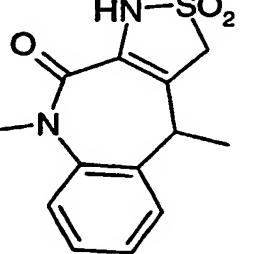
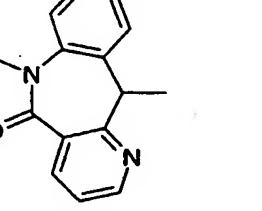
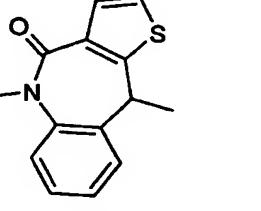
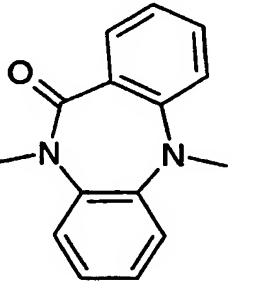
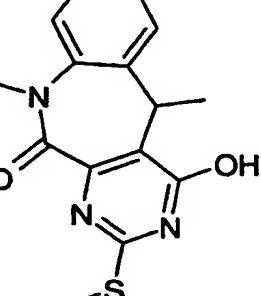
	A =	Abkürzung	A =	Abkürzung
10		2py		thpym
15		dhim		nmhs
20		bim		4pmhs
25		imhs		hs
30		bhs		sabhs
35		gua		bgua
40		2pmhs		dhpyrr
45		impy		ur
		hyd		ibhs
		3pmhs		agua

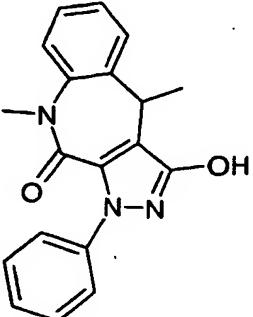
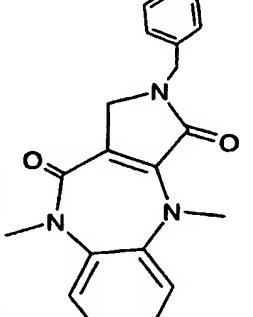
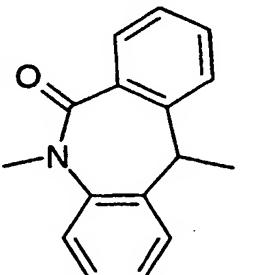
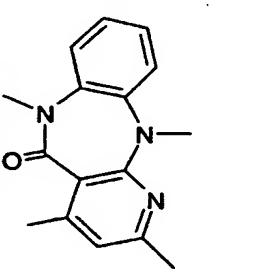
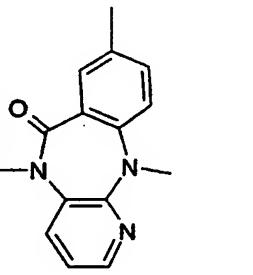
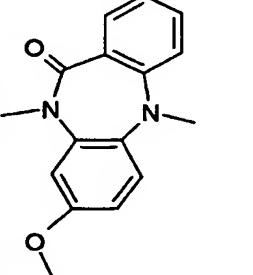
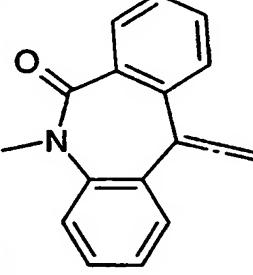
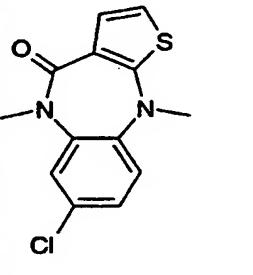
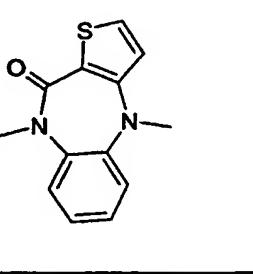
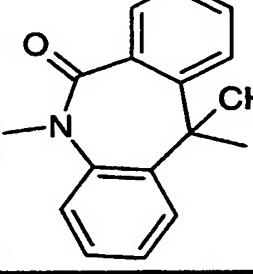
$A =$	Abkürzung	$A =$	Abkürzung
	dhthi		dimethpym
	thazep		hts
	mam2py		ppy
	thpy		im
	am2py		amthiz
	pippy		am4py
	amim		piraz
	thiz		amhyd
	amtriz		

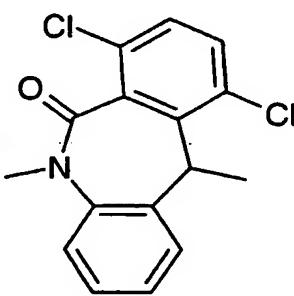
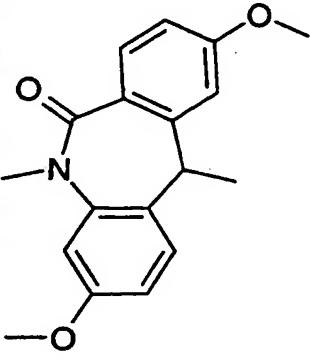
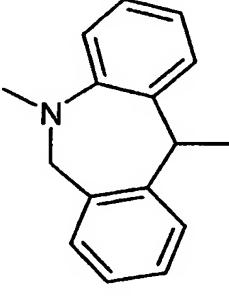
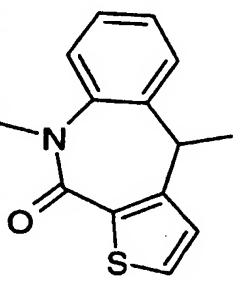
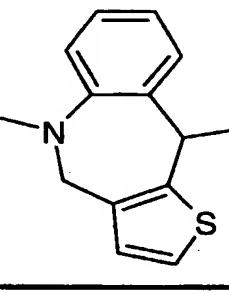
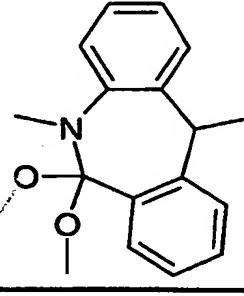
$E =$	Abkürzung	$E =$	Abkürzung
	edia2		mepipe2
	pyma2		am2
	pipa2		inda2
	25thima2		35thima2
	me35thima2		me25thima2
	dibema2		penta
	edia3		aof
	buta		hexa
	aaf		mea2
	42thiaz2		pipeme2
	chex2		me42thiaz2

	E =	Abkürzung	E =	Abkürzung
5		mepyma2		mea3
10		edia42-thiaz		mea42-thiaz
15		edia42-oxaz		mea42oxaz
20		ediapmebz		ediammebz
25		edia26-pyme		edia36-pyme
30		mea26pyme		mea36pyme

G =	Abkürzung	G =	Abkürzung
5	2mephec		8mephec
10			
15	meophe		23dimephec
20			
25	9clphec		78dimeophec
30			
35	69dimeophec		78diclphc
40			

G =	Abkürzung	G =	Abkürzung
5 	69dimephec	49 	49dimeophec
15 	imon	15 	dimepy
25 	dimethio	25 	sulfo
30 	pyphc	30 	thioph
35 	pheaz	35 	thiomet

G =	Abkürzung	G =	Abkürzung	
5		phepyra		benz
10				
15		phec		dimepyaz
20				
25		8mepyaz		meoaz
30				
35		phedb		5claz
40		thiophaz		mephe
45				

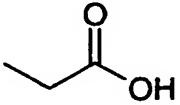
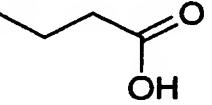
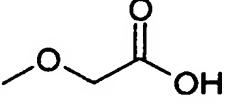
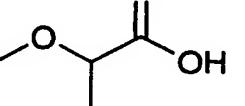
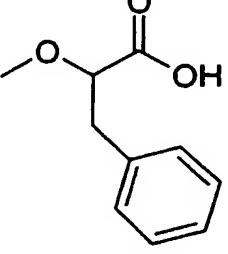
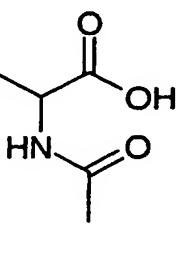
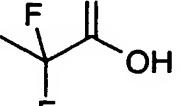
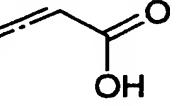
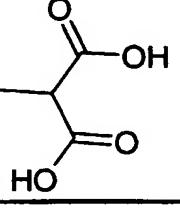
$G =$	Abkürzung	$G =$	Abkürzung
5 	cl2phec	10 	27dimeophec
15 	deophec	20 	thioph2
25 	deothioph	30 	dmaphec

30

35

40

45

$L =$	Abkürzung	$L =$	Abkürzung
	es		ps
	gs		ms
	pms		nes
	f2es		as
	mals		

Verbindungen der allgemeinen Formel I und die zu ihrer Herstellung verwendeten Ausgangsstoffe lassen sich generell nach dem Fachmann bekannten Methoden der organischen Chemie herstellen, wie es in Standardwerken wie z.B. Houben-Weyl, "Methoden der Organischen Chemie", Thieme-Verlag, Stuttgart, oder March "Advanced Organic Chemistry", 4th Edition, Wiley & Sons, beschrieben ist. Weitere Herstellungsmethoden sind auch in R. Labrock, "Comprehensive Organic Transformations", Weinheim 1989 beschrieben, insbesondere die Herstellung von Alkenen, Alkinen, Halogeniden, Aminen, Ethern, Alkoholen, Phenolen, Aldehyden, Ketonen, Nitrilen, Carbonsäuren, Estern, Amiden und Säurechloriden.

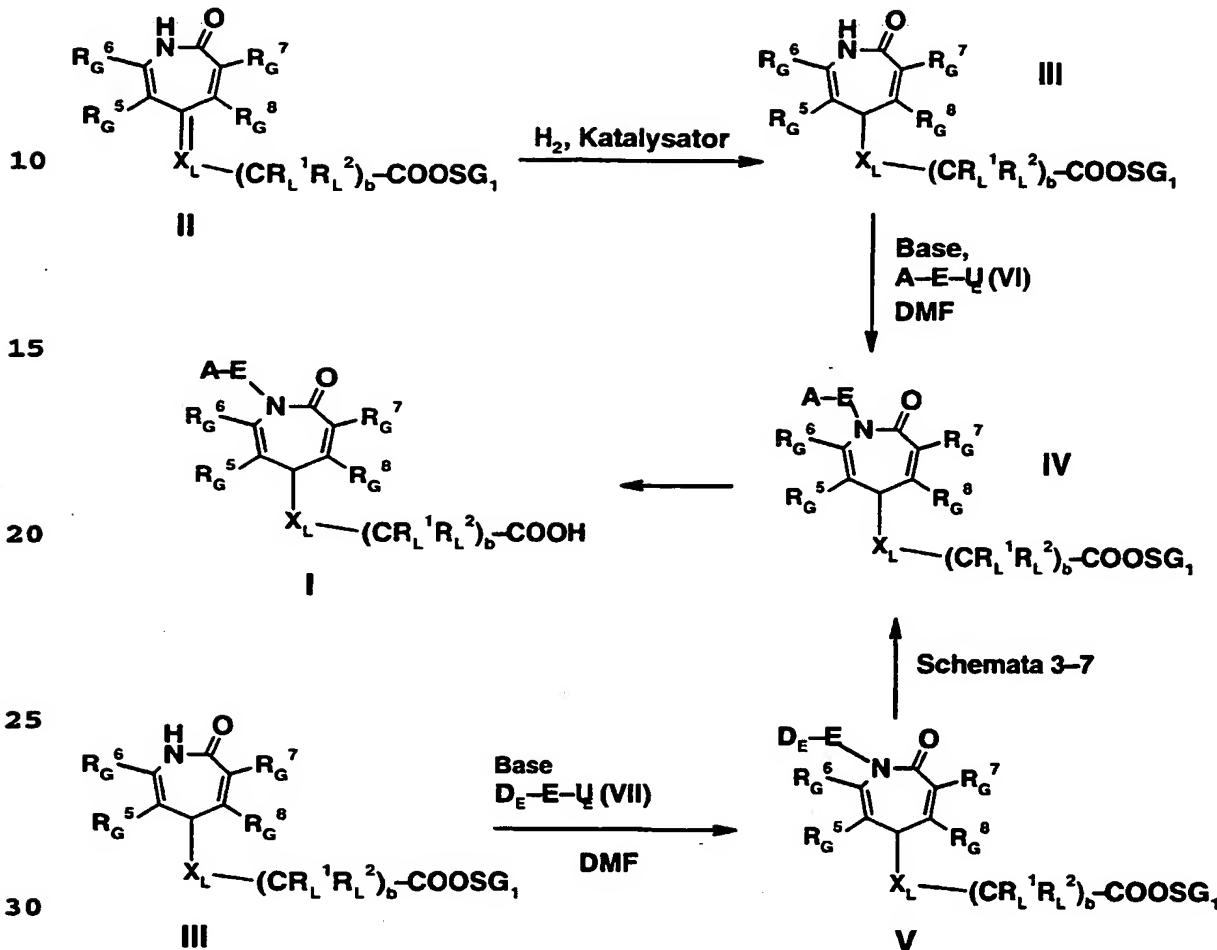
Die allgemeine Synthese von Verbindungen der Formel I, wobei A-E für B steht, ist in den Schemata 1-7 beschrieben. Sofern nicht anders angegeben sind sämtliche Ausgangsmaterialien und Reagenzien käuflich, oder lassen sich aus käuflich erhältlichen Vorprodukten nach gängigen Methoden herstellen.

64

Schema 1 beschreibt allgemein den Aufbau von Verbindungen der Formel I.

Schema 1

5



Bausteine des Typs II (für X_L gleich CH) sind bekannt und lassen sich nach bekannten Methoden ausgehend von entsprechend substituierten oder anelierten 1*H*-Azepin-2,5-dionen darstellen, wie es exemplarisch z.B. in J. Med. Chem. 1986, 29, 1877-1888 oder DE 35 1568217 beschrieben ist. 1*H*-Azepin-2,5-dione, die zur Darstellung von Verbindungen des Typs I verwendet werden, sind entweder käuflich oder lassen sich gemäß folgender Publikationen darstellen:

40 5*H*-Dibenzo[b,e]azepin-6,11-dion bzw. substituierte Varianten nach J. Med. Chem. 1965, 8, 74, oder Gazz. Chim. Ital. 1953, 83, 533 und 1954, 84, 1135; 5*H*-Pyrido[3,2-c][1]benzazepin-5,11(6*H*)-dion nach Liebigs Ann. Chem. 1989, 469-476; 4*H*-Thieno[3,2-c][1]benza-45 zepin-4,10(5*H*)-dion nach Eur. J. Med. Chem. Ther. 1981, 16, 391-398.

Die Umsetzung zu III wird durch Hydrierung der Doppelbindung unter Standardbedingungen durchgeführt. Dabei kann auch von an sich bekannten, hier nicht erwähnten Varianten Gebrauch gemacht werden. Bevorzugt wird die Hydrierung in Gegenwart eines Edelmetallkatalysators, wie z.B. Pd auf Aktivkohle, Pt, PtO₂, Rh auf Al₂O₃ in einem inerten Lösungsmittel bei einer Temperatur von 0-150°C und einem Druck von 1-200 bar durchgeführt; der Zusatz einer Säure wie z.B. Essigsäure oder Salzsäure kann vorteilhaft sein. Besonders bevorzugt ist die Hydrierung in Gegenwart von 5-10% Pd auf Aktivkohle.

Als Lösungsmittel können alle gängigen inerten Lösungsmittel verwendet werden wie beispielsweise Kohlenwasserstoffe wie Hexan, Heptan, Petrolether, Toluol, Benzol oder Xylol; chlorierte Kohlenwasserstoffe wie Trichlorethylen, 1,2-Dichlorethan, Tetra-chlorkohlenstoff, Chloroform, Dichlormethan; Alkohole wie Methanol, Ethanol, Isopropanol, n-Propanol, n-Butanol oder tert.-Butanol; Ether wie Diethylether, Methyl-tert.butylether, Diisopropylether, Tetrahydrofuran, Dioxan; Glycol-ether wie Ethylen-glycolmonomethylether oder -monoethyl-ether, Ethylenglycoldimethylether; Ketone wie Aceton, Butanon; Amide wie Dimethyl-formamid (DMF), Dimethylacetamid oder Acetamid; Sulfoxide wie Dimethylsulfoxid, Sulfolan; Pyridin, N-Methylpyrrolidon, 1,3-Dimethyltetrahydro-2(1H)-pyrimidinon (DMPU), 1,3-Dimethyl-2-imidazolidinon, Wasser oder Gemische der genannten Lösungsmittel.

Die Darstellung von Verbindungen des Typs IV erfolgt durch Umsetzung mit Verbindungen der allgemeinen Formel A-E-U_E (VI), wobei der Rest U_E für eine übliche Abgangsgruppe steht, beispielsweise Halogen wie Chlor, Brom, Iod oder für einen, gegebenenfalls durch Halogen, Alkyl oder Halogenalkyl substituierten Aryl- oder Alkyl-sulfonyloxy-Rest, wie beispielsweise Toluolsulfonyloxy, Trifluor-methansulfonyloxy und Methylsulfonyloxy oder eine andere äquivalente Abgangsgruppe.

Die Reaktion findet bevorzugt in einem inerten Lösungsmittel statt unter Zusatz einer geeigneten Base, d.h. einer Base, die eine Deprotonierung des Zwischenproduktes III bewirkt, in einem Temperaturbereich von -40°C bis zum Siedepunkt des entsprechenden Lösungsmittels statt.

Als Base kann ein Alkali- oder Erdalkalimetallhydrid wie Natriumhydrid, Kaliumhydrid oder Calciumhydrid, ein Carbonat wie Alkali-metallcarbonat, z.B. Natrium- oder Kaliumcarbonat, ein Alkali-45 oder Erdalkalimetallhydroxid wie Natrium- oder Kaliumhydroxid, ein Alkoholat wie z.B. Natriummethanolat, Kaliumtert.butanolat, eine metallorganische Verbindung wie Butyllithium oder Alkali-

amide wie Lithiumdiisopropylamid, Lithium-, Natrium- oder Kalium-bis-(trimethylsilyl)-amid dienen.

Abspaltung der Schutzgruppe SG1 nach Standardbedingungen

5 (s. unten) führt zu den Verbindungen der allgemeinen Formel I.

Für den Fall SG1 gleich C₁-C₄-Alkyl oder Benzyl entsprechen die Verbindungen der allgemeinen Formel IV direkt den Verbindungen des Typs I.

10 Alternativ zu dieser Synthesestrategie lassen sich Verbindungen des Typs I auch über V als Zwischenprodukt herstellen, wobei auch hier Reaktionsbedingungen verwendet werden, wie sie dem Fachmann bekannt und in Standardwerken beschrieben sind. Die Herstellung der Verbindung V erfolgt durch Umsetzung von Verbindungen des

15 Typs III mit Verbindungen der allgemeinen Formel D_E-E-U_E (VII) unter Reaktionsbedingungen, wie sie für die Darstellung von IV schon beschrieben wurden. U_E steht für eine geeignete Abgangsgruppe, wie vorstehend beschrieben und D_E für CN, oder eine geschützte Amino- oder Säurefunktion der allgemeinen Formel NSG₃

20 oder COOSG₂. Der Aufbau der Fragmente D_E-E bzw. A-E erfolgt - abhängig von der eigentlichen Struktur von E - durch Abspaltung der Schutzgruppen und Ankopplung der restlichen Fragmente nach Standardmethoden, z.B. Amidkupplungen. Die Einführung von A erfolgt dann analog zu den in den Schemata 3-7 beschriebenen

25 Umsetzungen.

Verbindungen des Typs I, in denen X_G für N steht, lassen sich gemäß Schema 2 herstellen.

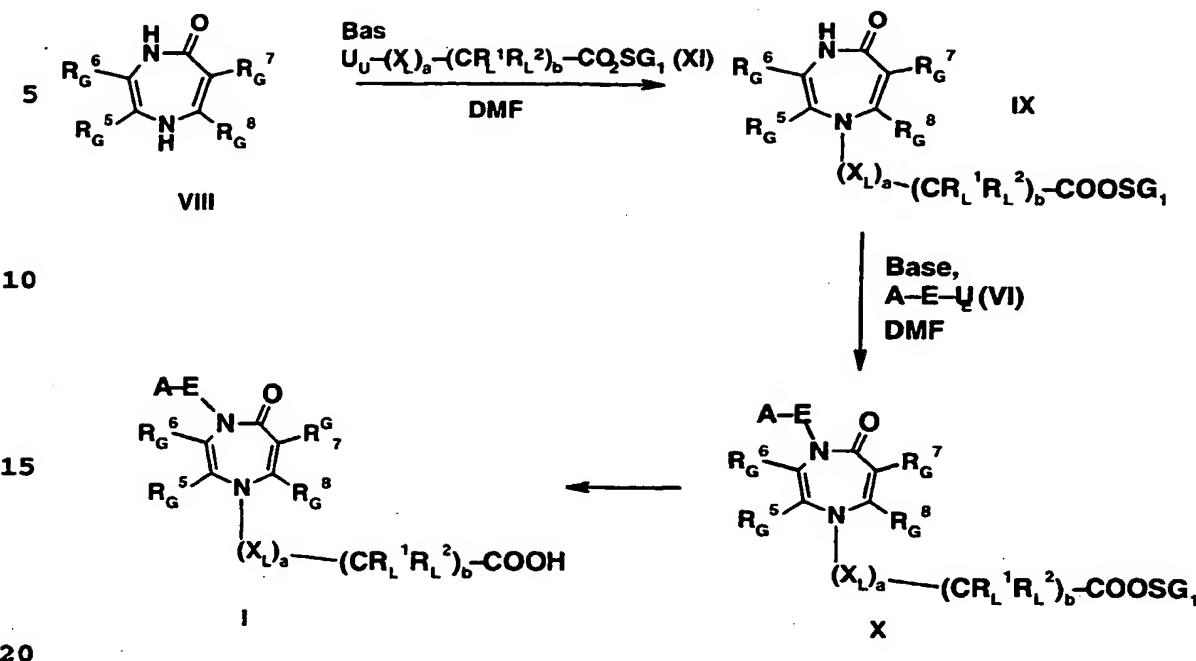
30

35

40

45

Schema 2



Ausgangspunkt der Synthese sind Verbindungen des Typs VIII, die entweder bekannt sind bzw. dem Fachmann nach bekannten Methoden zugänglich sind, wie es z.B. in Pharmazie 45 (8), 1990, 555-559 beschrieben ist. Alkylierung mit einer Verbindung der allgemeinen Formel XI (U_U = übliche Abgangsgruppe, wie vorstehend für U_E beschrieben) unter Reaktionsbedingungen, wie sie für die Herstellung von Substanzen des Typs IV beschrieben sind, führt zu IX. Die weiteren Umsetzungen zu I über X verlaufen analog

30 Schema 1.

Die Kupplung der einzelnen Fragmente und die Abspaltung der Schutzgruppen kann nach bekannten Verfahren erfolgen (s. Larock, "Comprehensive Organic Transformations; Schutzgruppen: Greene und 35 Wuts, T., "Protective Groups in Organic Synthesis", New York 1991), im Falle von Amidbindungen auch analog den Methoden der Peptidsynthese, wie in Standardwerken z.B. in Bodanszky "The Practice of Peptide Synthesis", 2nd Edition, Springer-Verlag 1994, und Bodanszky "Principles of Peptide Synthesis", Springer-40 Verlag 1984, beschrieben ist. Eine allgemeine Übersicht der gängigen Methoden zur Peptidsynthese und eine Auflistung geeigneter Reagenzien ist weiterhin zu finden in NOVABIOCHEM 1999 "Catalog and Peptide Synthesis Handbook".

45 Die genannten Amidkupplungen können mithilfe gängiger Kupplungsreagenzien unter Verwendung von geeignet geschützten Amino- und Carbonsäure-Derivaten durchgeführt werden. Eine andere Methode

besteht in der Verwendung voraktivierter Carbonsäure-Derivate, vorzugsweise von Carbonsäure-halogeniden, symmetrischen oder gemischten Anhydriden oder sogenannter Aktivester, die üblicherweise zur Acylierung von Aminen verwendet werden. Diese aktivierten Carbonsäure-Derivate können auch in-situ hergestellt werden. Die Kupplungen lassen sich in der Regel in inerten Lösungsmitteln in Gegenwart eines säurebindenden Mittels durchführen, vorzugsweise einer organischen Base wie z.B. Triethylamin, Pyridin, Diisopropylethylamin, N-Methylmorpholin, Chinolin; auch der Zusatz eines Alkali- oder Erdalkalimetallhydroxids, -carbonats oder -hydrogencarbonats oder eines anderen Salzes einer schwachen Säure der Alkali- oder Erdalkalimetalle, vorzugsweise des Kaliums, Natriums, Calciums oder Caesiums kann günstig sein.

15 Die Reaktionszeit liegt je nach verwendeten Bedingungen zwischen Minuten und 14 Tagen, die Reaktionstemperatur zwischen -40°C und 140°C, vorzugsweise zwischen -20°C und 100°C.

Als inerte Lösungsmittel eignen sich z.B. Kohlenwasserstoffe wie Hexan, Heptan, Petrolether, Toluol, Benzol oder Xylol; chlorierte Kohlenwasserstoffe wie Trichlorethylen, 1,2-Dichlorethan, Tetrachlorkohlenstoff, Chloroform, Dichlormethan; Alkohole wie Methanol, Ethanol, Isopropanol, n-Propanol, n-Butanol oder tert.-Butanol; Ether wie Diethylether, Methyl-tert.butylether, Diisopropyl-ether, Tetrahydrofuran, Dioxan; Glycolether wie Ethylenglycol-monomethylether oder -monoethylether, Ethylenglycoldimethylether; Ketone wie Aceton, Butanon; Amide wie Dimethylformamid (DMF), Dimethylacetamid oder Acetamid; Nitrile wie Acetonitril; Sulfoxide wie Dimethylsulfoxid, Sulfolan; N-Methylpyrrolidon, 1,3-Dimethyl-tetrahydro-2(1H)-pyrimidinon (DMPU), 1,3-Dimethyl-2-imidazolidinon, Nitroverbindungen wie Nitromethan oder Nitrobenzol; Ester wie Ethylacetat (Essigester); Wasser; oder Gemische der genannten Lösungsmittel.

35 Als Schutzgruppen SG können alle dem Fachmann aus der Peptid-synthese bekannten und gängigen Schutzgruppen verwendet werden, wie sie auch in den oben genannten Standardwerken beschrieben sind.

40 Die Abspaltung der Schutzgruppen in den Verbindungen der Formel IV, V, VI und VII erfolgt ebenfalls nach Bedingungen, wie sie dem Fachmann bekannt sind und z.B. von Greene und Wuts in "Protective Groups in Organic Synthesis", 2nd Edition, Wiley & Sons, 1991, beschrieben sind.

Bei Schutzgruppen wie SG₃ handelt es sich um sogenannte N-terminale Aminoschutzgruppen; bevorzugt sind hier Boc, Fmoc, Benzyloxycarbonyl (Z), Acetyl oder Mtr.

5 SG₁ und SG₂ stehen für sogenannte C-terminale Hydroxyschutzgruppen, bevorzugt sind hier C₁-C₄-Alkyl wie z.B. Methyl, Ethyl, tert-Butyl, oder auch Benzyl oder Trityl, oder auch polymer gebundene Schutzgruppen in Form der handelsüblichen Poly Styrol-Harze wie z.B. 2-Chlortritylchloridharz oder Wang-Harz

10 (Fa. Bachem, Fa. Novabiochem).

Die Abspaltung säurelabiler Schutzgruppen (z.B. Boc, tert. Butyl, Mtr, Trityl) kann - je nach verwendeter Schutzgruppe- mit organischen Säuren wie Trifluoressigsäure (TFA), Trichloressigsäure, Perchlorsäure, Triflurethan; aber auch anorganischen Säuren wie Salzsäure oder Schwefelsäure, Sulfonsäuren wie Benzol- oder p-Toluolsulfonsäure erfolgen, wobei die Säuren generell im Überschuß eingesetzt werden. Im Falle von Trityl kann der Zusatz von Thiolen wie z.B. Thioanisol oder Thiophenol vorteilhaft sein.

20 Die Anwesenheit eines zusätzlichen inerten Lösungsmittels ist möglich, aber nicht immer erforderlich. Als inerte Lösungsmittel eignen sich vorzugsweise organische Lösungsmittel, beispielsweise Carbonsäuren wie Essigsäure; Ether wie THF oder Dioxan; Amide wie DMF oder Dimethylacetamid; halogenierte Kohlenwasserstoffe wie

25 Dichlormethan; Alkohole wie Methanol, Isopropanol; oder Wasser. Es kommen auch Gemische der genannten Lösungsmittel in Frage.

Die Reaktionstemperatur für diese Umsetzungen liegt zwischen 10°C und 50°C, vorzugsweise arbeitet man in einem Bereich zwischen 0°C

30 und 30°C.

Basenlabile Schutzgruppen wie Fmoc werden durch Behandlung mit organischen Aminen wie Dimethylamin, Diethylamin, Morpholin, Piperidin als 5-50% Lösungen in CH₂Cl₂ oder DMF gespalten. Die Reaktionstemperatur für diese Umsetzungen liegt zwischen 10°C und 50°C, vorzugsweise arbeitet man in einem Bereich zwischen 0°C und 30°C.

Säureschutzgruppen wie Methyl oder Ethyl werden bevorzugt durch

40 basische Hydrolyse in einem inerten Lösungsmittel gespalten. Als Basen werden bevorzugt Alkali- oder Erdalkalimetallhydroxide, vorzugsweise NaOH, KOH oder LiOH verwendet;

als Lösungsmittel kommen alle gängigen inerten Lösungsmittel wie

45 z.B. Kohlenwasserstoffe wie Hexan, Heptan, Petrol ether, Toluol, Benzol oder Xylol; chlorierte Kohlenwasserstoffe wie Trichlorethylen, 1,2-Dichlorethan, Tetrachlorkohlenstoff, Chloroform,

Dichlormethan; Alkohole wie Methanol, Ethanol, Isopropanol, n-Propanol, n-Butanol oder tert.-Butanol; Ether wie Diethyl-ether, Methyl-tert.butylether, Diisopropylether, Tetrahydrofuran, Dioxan; Glycolether wie Ethylenglycolmonomethylether oder -mono-
 5 ethylether, Ethylen-glycol-dimethylether; Ketone wie Aceton, Butanon; Amide wie Dimethylformamid (DMF), Dimethylacetamid oder Acetamid; Nitrile wie Acetonitril; Sulfoxide wie Dimethyl-sulfoxid, Sulfolan; N-Methylpyrrolidon, 1,3-Dimethyltetra-hydro-2(1H)-pyrimidinon (DMPU), 1,3-Di-methyl-2-imidazolidinon;
 10 Nitroverbindungen wie Nitromethan oder Nitro-benzol; Wasser oder Gemische der genannten Lösungsmittel zum Einsatz. Der Zusatz eines Phasen-transferkatalysators kann -je nach verwendetem Lösungsmittel bzw. -gemischs von Vorteil sein. Die Reaktions-temperatur für diese Umsetzungen liegt generell zwischen -10°C
 15 und 100°C.

Hydrogenolytisch abspaltbare Schutzgruppen wie Benzyloxycarbonyl (Z) oder Benzyl können z.B. durch Hydrogenolyse in Gegenwart eines Katalysators (z.B. eines Edel-metall-katalysators auf
 20 Aktivkohle als Träger) abgespalten werden. Als Lösungsmittel eignen sich die oben angegebenen, insbesondere Alkohole wie Methanol, Ethanol; Amide wie DMF oder Dimethylacetamid; Ester wie Ethylacetat. Die Hydrogenolyse wird in der Regel bei einem Druck von 1 bis 200 bar und Temperaturen zwischen 0°C und 100°C durch-
 25 geführt; der Zusatz einer Säure wie z.B. Essigsäure oder Salzsäure kann vorteilhaft sein. Als Katalysator wird bevorzugt 5 bis 10 % Pd auf Aktivkohle verwendet.

Der Aufbau von Bausteinen des Typs E erfolgt generell nach dem
 30 Fachmann bekannten Methoden; die verwendeten Bausteine sind entweder käuflich oder nach literaturbekannten Methoden zugänglich. Die Synthese einiger dieser Bausteine ist exemplarisch im experimentellen Teil beschrieben.

35 Für den Fall, daß die in den Verbindungen des Typs V und VI enthaltenden Fragmente Q_E bzw. X_E für einen Hetaryl-Rest stehen, so kann der Rest E über Verbindungen des Typs VI-VII ausgehend von Amino-Hetarylcabsonsäuren, Amino-Hetarylcabsonsäureestern bzw. Nitrilen nach dem Fachmann bekannten und beschriebenen
 40 Methoden aufgebaut werden. Eine Vielzahl Herstellungsmethoden sind in Houben-Weyls "Methoden der organischen Chemie" ausführlich beschrieben (Bd. E6: Furane, Thiophene, Pyrrole, Indole, Benzothiophene, -furane, -pyrrole; Bd. E7: Chinoline, Pyridine, Bd. E8: Isoxazole, Oxazole, Thiazole, Pyrazole, Imidazole und
 45 deren benzoannellierte Vertreter, sowie Oxadiazole, Thiadiazole und Triazole; Bd. E9: Pyridazine, Pyrimidine, Triazine, Azepine und deren benzoannelierte Vertreter sowie Purine). Auch die Ver-

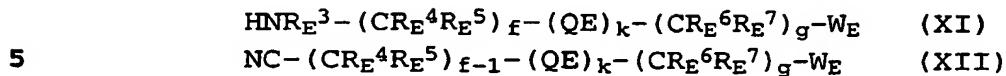
knüpfung dieser Fragmente zu E kann, je nach Struktur von E, über die Amino- oder Säurefunktion nach Methoden erfolgen, die dem Fachmann bekannt sind.

5 Entsprechende Hetaryl-Derivate sind entweder käuflich oder analog den folgenden Publikationen herstellbar:

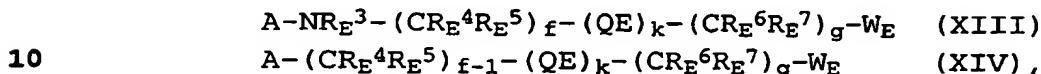
5-(Aminomethyl)-2-pyridinecarbonitril nach WO 95/25426,
5-(Aminomethyl)-3-thiophene-carbonitril nach WO 98/06741,
10 5-(Aminomethyl)-2-thiophenecarbonitril in WO 95/23609,
2-(Aminomethyl)-1,3-thiazole-4-carbonitril analog zu WO 98/06741,
3-Oxo-5-isoindolin-carbonsäure nach WO 97/37655,
3-Amino-2-pyrrolidon nach WO 98/44797,
Spirocyclen wie [8-(Aminomethyl)-2-oxa-3-azaspiro[4.5]dec-3-en-
15 4-yl]acetat und [7-(aminomethyl)-2-oxa-3-azaspiro[4.4]non-3-en-
4-yl]acetat nach WO 97/33887,
[5-(2-Aminoalkyl)-4,5-dihydro-3-isoxazolyl]carbonsäure bzw.
-acetat, [3-(2-Aminoalkyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbosäure
bzw. acetat nach WO 96/37492,
20 1-(3-Aminoalkyl)-1H-indazole-5-carbonsäure nach WO 97/23480;
2-Amino-1,3-thiazol-5-carbonsäureethylester in Kushner et al.,
J. Org. Chem. 1948, 13, 834ff;
2-Amino-4-pyridincarbonsäuremethylester in Podany et al.,
J. Org. Chem. 1986, 51, 2988-2994;
25 5-Amino-3-pyridincarbonsäuremethylester in Hawkins et al.,
J. Org. Chem. 1949, 14, 328-332;
4-Amino-2-pyrimidincarbonsäuremethylester in DE 2848912,
6-Amino-4-pyrimidin-carbonsäuremethylester in Zh. Org. Khim.
1981, 17, 312-317;
30 5-Amino-1,3-thiazol-2-carbonsäureethylester in Adams et al.,
J. Chem. Soc. 1956, 1870-1873;
4-(Aminomethyl)-2-thiophencarbonsäuremethylester in Peschke
et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 1997, 7, 1969-1972;
2-Amino-1,3-oxazol-4-carbonsäure in Foulis et al., J. Med. Chem.
35 1971, 14, 1075-1077;
4-Aminopyridin-2-carbonsäuremethylester in Mostier et al.,
J. Org. Chem. 1955, 20, 283-285; 2-Amino-pyrimidin-3-carbonsäure-
methylester in Liebigs Ann. Chem. 1965, 209-211;
5-Amino-1,3,4-thiadiazol-5-carbonsäure in Liebigs Ann. Chim.
40 1963, 3;
5-Amino-1,3,4-triazol-5-carbonsäure in US 3023210;
4-Aminopyrrol-2-carbonsäure in J. Med. Chem. 1983, 26, 1042;
1-Methyl-3-aminopyrazol-5-carbonsäure in Acta Chem. Scand. 1990,
44, 74;
45 1-Methyl-5-amino-3-carbonsäure in Lee et al., J. Org. Chem. 1989,
54, 428.

72

Die Überführung von Verbindungen der allgemeinen Formel XI und XII



in Verbindungen der allgemeinen Formel:



wobei W_E COOSG_2 oder NSG_3 bedeutet,

15 kann nach dem Fachmann bekannten Methoden erfolgen, die z.B. in WO 97/08145 beschrieben sind. Diese Bausteine können dann entweder direkt - im Fall der entsprechenden freien Amine bzw. Carbonsäuren - oder nach Abspaltung der Schutzgruppen- zu Verbindungen der allgemeinen Formel I (Schema 1) umgesetzt werden.

20 Prinzipiell kann A jedoch auch, wie in Schema 1 beschrieben, in Verbindungen des Typs V eingeführt werden, wobei die angeführten Reaktionsbedingungen genauso wie hier nicht beschriebene Varianten zum Einsatz kommen können.

25 In den Schemata 3-7 sind eine Reihe der Methoden zur Einführung von A exemplarisch beschrieben, wobei jeweils Reaktionsbedingungen verwendet wurden, wie sie für die jeweiligen Umsetzungen bekannt und geeignet sind. Dabei kann auch von an sich bekannten, hier nicht erwähnten Varianten Gebrauch gemacht werden.

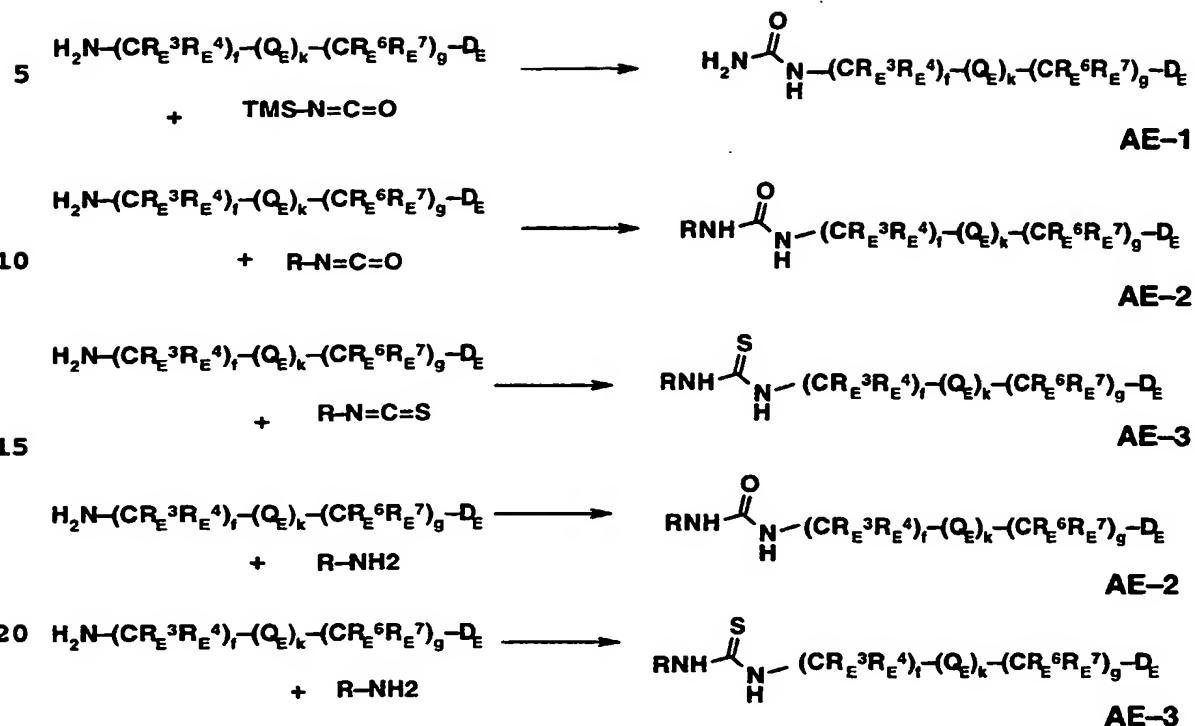
30

35

40

45

Schema 3



25 Harnstoffe bzw. Thioharnstoffe (AE-1 bis AE-3) lassen sich nach gängigen Methoden der organischen Chemie herstellen, z.B. durch Umsetzung eines Isocyanats bzw. eines Thioisocyanats mit einem Amin, gegebenenfalls in einem inerten Lösungsmittel unter Erwärmen (Houben-Weyl Band VIII, 157ff.) (Schema 3).

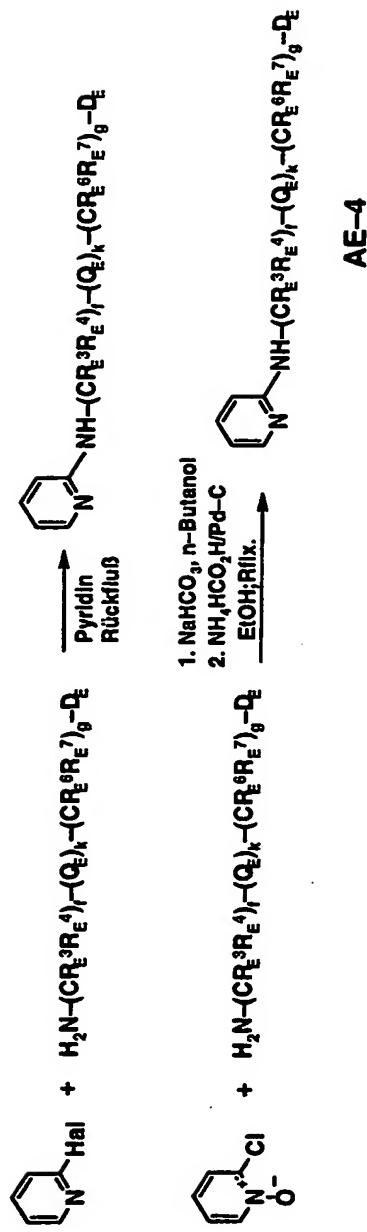
30

Schema 4 zeigt beispielhaft die Darstellung von Verbindungen des Typs AE-4, wie es z.B. von Blakemoore et al. in Eur. J. Med. Chem. 1987 (22) 2, 91-100, oder von Misra et al. in Bioorg. Med. Chem. Lett. 1994 4 (18), 2165-2170 beschrieben ist.

40

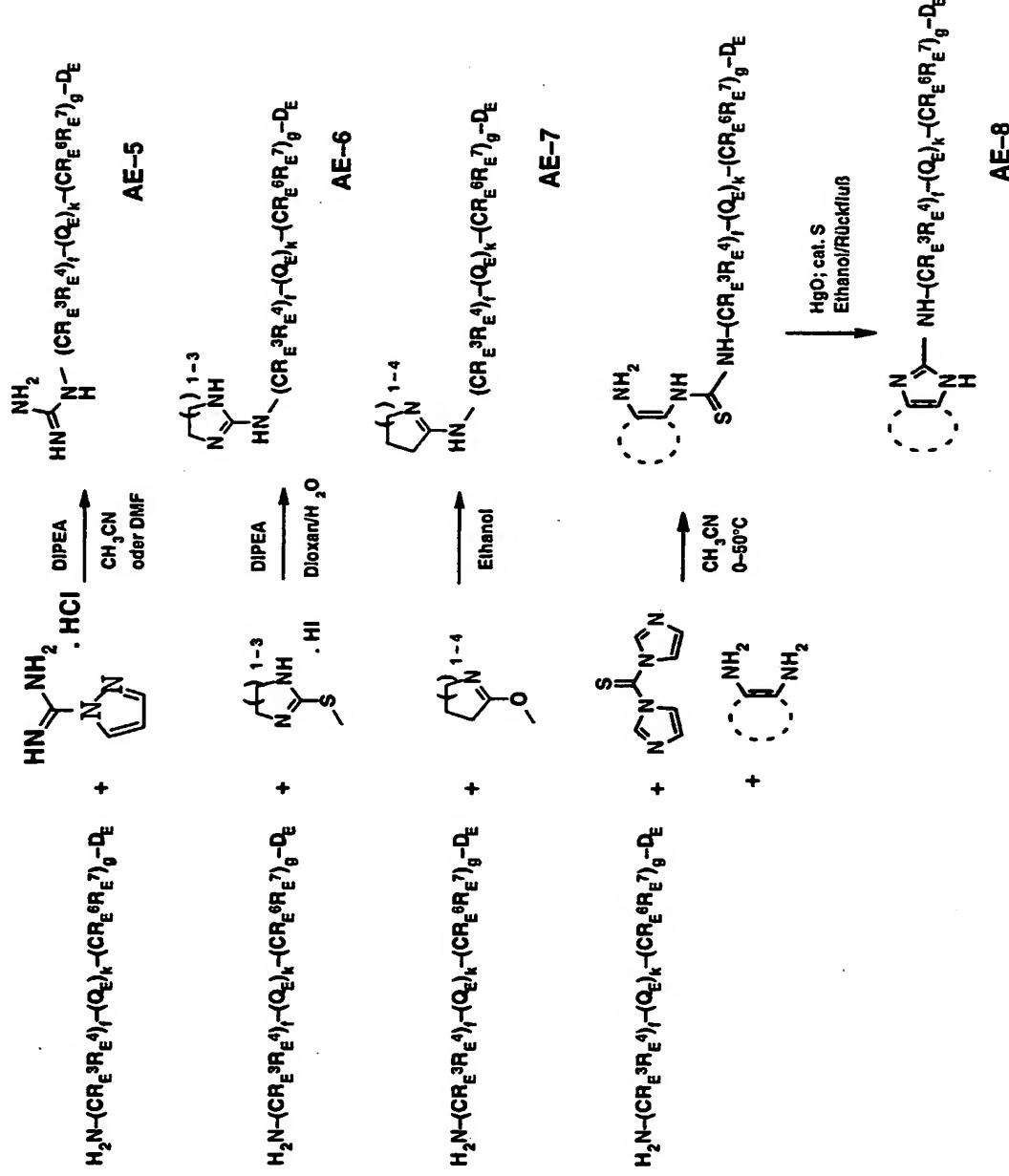
45

Schema 4

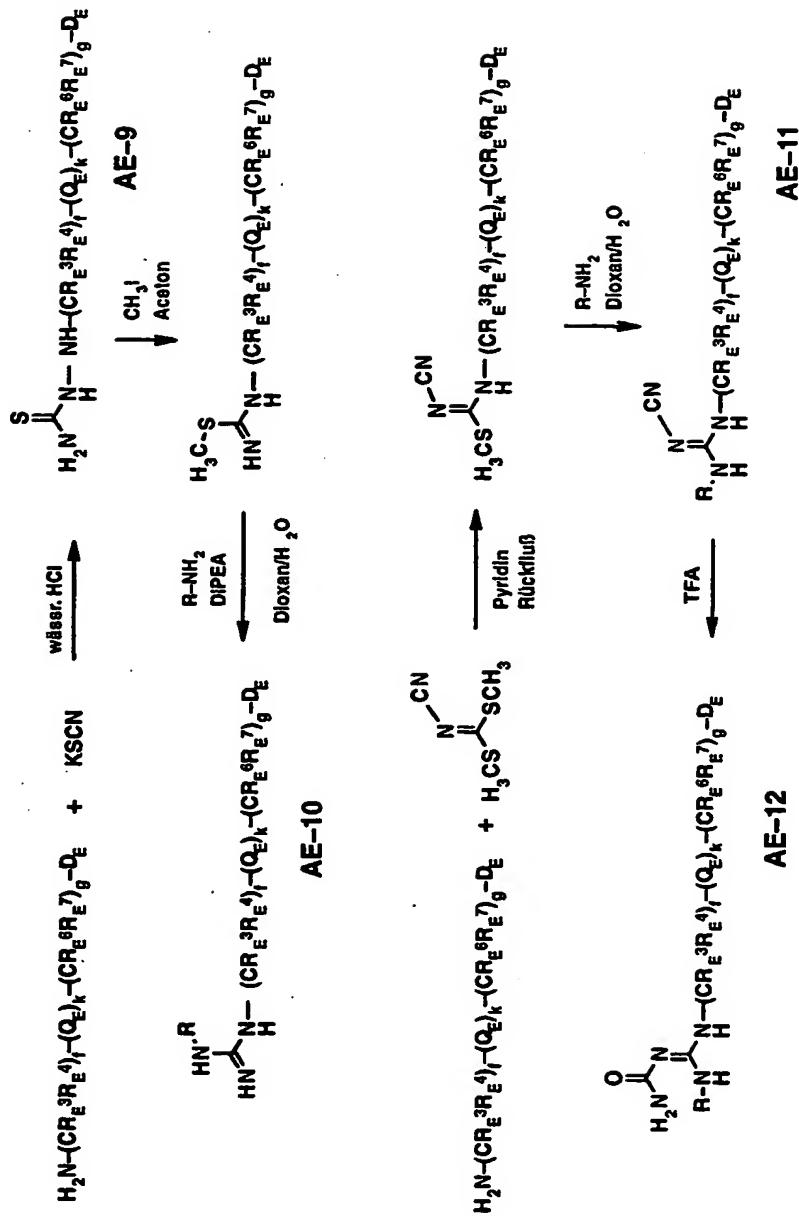


Unsubstituierte oder cycl. Guanidin-Derivate der allgemeinen Formel AE-5 und AE-6 lassen sich mittels käuflicher oder einfach zugänglichen Reagenzien herstellen, wie z.B. in Synlett 1990, 745, J. Org. Chem. 1992, 57, 2497, Bioorg. Med. Chem. 1996, 6, 1185-1208; Bioorg. Med. Chem. 1998, 1185, oder Synth. Comm. 1998, 28, 741-746, beschrieben.

Schema 5

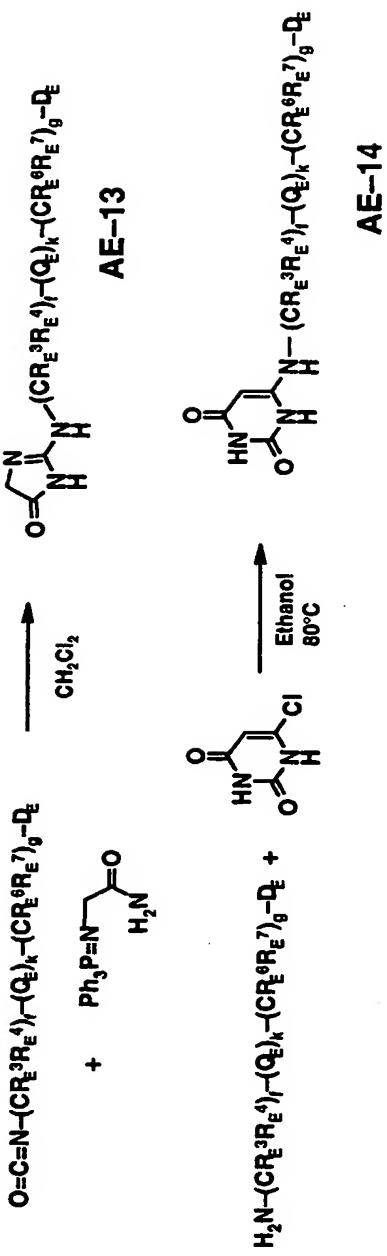


Schema 5 Fortsetzung



Die Darstellung von Verbindungen der allgemeinen Formel AE-7 kann analog zu US 3,202,660, Verbindungen der Formel AE-9, AE-10, AE-11 und AE-12 analog zu WO 97/08145 erfolgen. Verbindungen der Formel AE-8 lassen sich, wie in Schema 6 gezeigt, z.B. gemäß der von Perkins et al., Tetrahedron Lett. 1999, 40, 1103-1106, beschriebenen Methode herstellen. Schema 6 gibt eine Übersicht über die Synthese der genannten Verbindungen:

Schema 6



Verbindungen der allgemeinen Formel AE-13 lassen sich analog zu Froeyen et al., Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem. 1991, 63, 283-293, AE-14 analog zu Yoneda et al., Heterocycles 1998, 15 5 N°-1, Spec. Issue, 341-344 (Schema 7) herstellen. Die Darstellung entsprechender Verbindungen kann auch analog WO 97/36859 erfolgen.

Verbindungen der allgemeinen Formel AE-15 lassen sich wie 10 in Synthesis 1981, 963-965 bzw. Synth. Comm. 1997, 27 (15), 2701-2707, AE-16 analog zu J. Org. Chem. 1991, 56 (6), 2260-2262 herstellen (Schema 7).

Schema 7

15

20

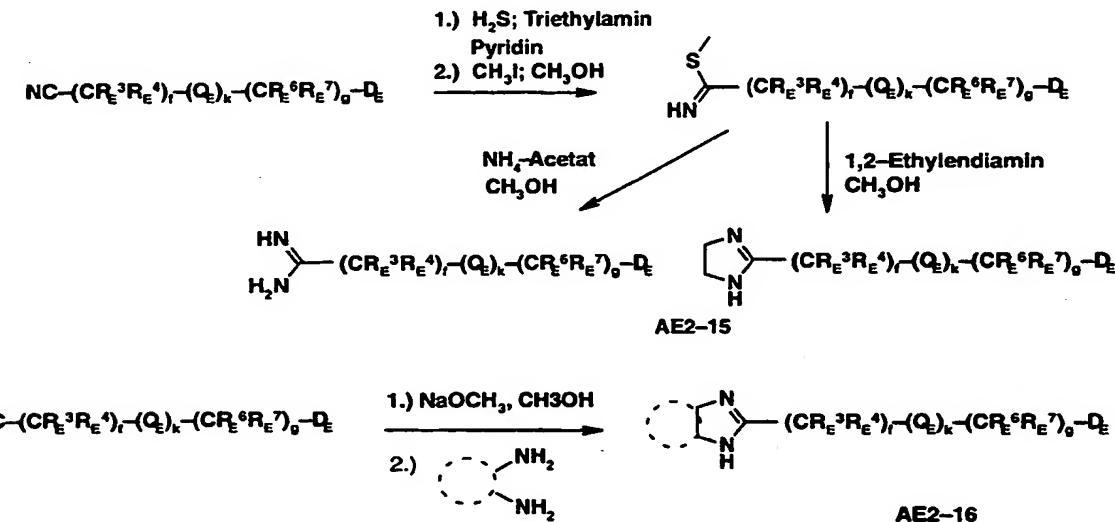
25

30

35

40

45



Die Erfindung betrifft ferner die Verwendung des Strukturelements der Formel I_{GL}

-G-L

I_{GL}

zur Herstellung von Verbindungen, die an Integrinrezeptoren binden.

Weiterhin betrifft die Erfindung Arzneimittel, enthaltend das Strukturelement der Formel I_{GL}.

Die Erfindung betrifft ferner Arzneimittelzubereitungen zur peroralen und parenteralen Anwendung, enthaltend neben den üblichen Arzneimittelhilfsstoffen, mindestens eine Verbindung der Formel I.

5

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können in üblicher Weise oral oder parenteral (subkutan, intravenös, intramuskulär, intra-peritoneal) verabreicht werden. Die Applikation kann auch mit Dämpfen oder Sprays durch den Nasen-Rachenraum erfolgen.

10

Die Dosierung hängt vom Alter, Zustand und Gewicht des Patienten sowie von der Applikationsart ab. In der Regel beträgt die tägliche Wirkstoffdosis zwischen etwa 0,5 und 50 mg/kg Körpergewicht bei oraler Gabe und zwischen etwa 0,1 und 10 mg/kg Körpergewicht 15 bei parenteraler Gabe.

Die neuen Verbindungen können in den gebräuchlichen galenischen Applikationsformen fest oder flüssig angewendet werden, z.B. als Tabletten, Filmtabletten, Kapseln, Pulver, Granulate, Dragees, 20 Suppositorien, Lösungen, Salben, Cremes oder Sprays. Diese werden in üblicher Weise hergestellt. Die Wirkstoffe können dabei mit den üblichen galenischen Hilfsmitteln wie Tablettbindern, Füllstoffen, Konservierungsmitteln, Tablettensprengmitteln, Fließreguliermitteln, Weichmachern, Netzmitteln, Dispergiermitteln, 25 Emulgatoren, Lösungsmitteln, Retardierungsmitteln, Antioxidantien und/oder Treibgasen verarbeitet werden (vgl. H. Sucker et al.: Pharmazeutische Technologie, Thieme-Verlag, Stuttgart, 1991). Die so erhaltenen Applikationsformen enthalten den Wirkstoff normalerweise in einer Menge von 0,1 bis 90 Gew.-%.

30

Ferner betrifft die Erfindung die Verwendung der Verbindungen der Formel I zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Krankheiten. Die Verbindungen der Formel I können zur Behandlung von humanen und tierischen Krankheiten verwendet werden. Die Verbindungen der Formel I binden an Integrinrezeptoren. Sie eignen sich deshalb vorzugsweise als Integrin-Rezeptorliganden und zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Krankheiten in denen eine Integrinrezeptor involviert ist.

40 Vorzugsweise können sie zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Krankheiten verwendet werden, bei denen beispielsweise die Wechselwirkung zwischen Integrinen und ihren natürlichen Liganden überhöht ist.

45

Bevorzugt binden die Verbindungen der Formel I an den $\alpha_v\beta_3$ -Integrinrezeptor und können somit besonders bevorzugt als Liganden des $\alpha_v\beta_3$ -Integrinrezeptors und zur Behandlung von Krankheiten, in die der $\alpha_v\beta_3$ -Integrinrezeptor involviert ist, verwendet werden.

5.

Vorzugsweise können sie zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Krankheiten verwendet werden, bei denen beispielsweise die Wechselwirkung zwischen dem $\alpha_v\beta_3$ -Integrinrezeptor und seinen natürlichen Liganden überhöht ist.

10

Die Verbindungen der Formel I werden bevorzugt zur Beeinflussung von Stoffwechselvorgängen oder Regulationsmechanismen verwendet die bestimmten Krankheiten zugrunde liegen, wie beispielsweise die Inhibierung der Angiogenese oder zur Behandlung folgender

15 Krankheiten verwendet:

Kardiovaskuläre Erkrankungen wie Atherosklerose, Restenose nach Gefäßverletzung, und Angioplastie (Neointimabildung, Glattmuskelzellmigration und Proliferation),

20

akutes Nierenversagen,

Angiogenese-assoziierte Mikroangiopathien wie beispielsweise diabetische Retinopathie oder rheumatische Arthritis,

25

Blutplättchen vermittelter Gefäßverschluß, arterielle Thrombose,

Schlaganfall, Reperfusionsschäden nach Myokardinfarkt oder Schlaganfall,

30

Krebserkrankungen, wie beispielsweise bei der Tumormetastasierung oder beim Tumorwachstum (tumorinduzierte Angiogenese),

35

Osteoporose (Knochenresorption nach Proliferation, Chemotaxis und Adhäsion von Osteoclasten an Knochenmatrix),

Bluthochdruck, Psoriasis, Hyperparathyroismus, Paget'sche Erkrankung, maligne Hypercalcemie, metastatische osteolytische Läsionen, Entzündung, Wundheilung, Herzinsuffizienz, CHF, sowie

40 bei

anti-viraler, anti-parasitärer oder anti-bakterieller Therapie und Prophylaxe (Adhäsion und Internalisierung).

45 Die folgenden Beispiele erläutern die Erfindung, wobei die Auswahl dieser Beispiele nicht limitierend ist.

I. Synthesebeispiele

I.A Vorstufen

5 Darstellung der Bausteine

(E,Z)-Methyl-[5-(2-tert-Butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-5,6-dihydro-11H-dibenzo[b,e]azepin-11-ylidene]acetat (1)

10 Zu einer Suspension von 4,7 g NaH (60 %; entölt mit n-Pentan) in 400 ml DMF wurde bei 0°C eine Lösung von (E,Z)-Methyl-6-oxo-5,6-dihydro-11H-dibenzo[b,e]azepin-11-ylidene]acetat (27 g, 96,7 mmol) in 100 ml DMF zugetropft und zur vollständigen Bildung des Anions ca. 30 min. gerührt. Anschließend wurde Bromessigsäuretert.-butylester (18,9 g, 96,7 mmol) zugesetzt und ca. 1,5 h bei 0°C nachgerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Mischung mit wäsr. NH₄Cl-Lösung versetzt, aufkonzentriert, der Rückstand in CH₂Cl₂ aufgenommen und mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen. Trocknen und Einengen der CH₂Cl₂-Phase ergaben 40,5 g Festkörper, die anschließend mit 20 Pentan verrührt und bei 30°C im Vakuum getrocknet wurden.

31,6 g; ESI-MS [M - tBu + H⁺] = 338;

¹H-NMR (DMSO-d6, 200 MHz) E/Z-Gemisch: δ (ppm) 7,65-7,1 (m, 8H), 6,3/6,25 (s, 1H), 4,5 (m, 2H), 3,6 (s, 3H), 1,35 (s, 9H).

25 Methyl-[5-(2-tert-Butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat (2)

(E, Z)-Methyl-[5-(2-tert-Butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-5,6-dihydro-11H-dibenzo[b,e]azepin-11-ylidene]acetat 1 (41 g, 104,2 mmol) wurde in 11 CH₃OH/Ethylacetat 1:1 aufgenommen, mit 3,1 g Katalysator (10 % Pd auf Kohle) versetzt, und die Mischung 21 h lang bei 50°C und einem Druck von 120 bar hydriert. Filtration über Celite, Waschen mit CH₃OH und Eindampfen der vereinigten Phasen ergaben 41,1 g des Hydrierproduktes als weißen Schaum.

ESI-MS [M - tBu + H⁺] = 340,05;

¹H-NMR (DMSO-d6, 270 MHz) Diastereomerengemisch: δ (ppm) 7,70-7,1 (m, 8H), 4,8-4,6 (m, 3H), 3,65/3,35 (s, 3H), 3,05 (m, 2H),

40 1,5/1,45 (s, 9H).

[11-(2-Methoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]-azepin-5-yl]acetat (3)

45 Methyl-[5-(2-tert-Butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat 2 (30,5 g, 77,5 mmol) wurden in 100 ml CH₂Cl₂ aufgenommen, bei 0°C mit 150 ml TFA versetzt und

ca. 1 h bei 0°C und dann bei RT gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde die Mischung eingedampft, 2x mit Toluol versetzt und erneut eingedampft. Als Rohprodukt wurden 33,6 g ein s gelblichen Öls erhalten, Kristallisation aus Aceton ergab 14,8 g weißen Festkörper.

ESI-MS $[M+H^+]$ = 340;
 1H -NMR (DMSO-d6, 400 MHz) Diastereomerengemisch: δ (ppm) 7,7-7,05 (m, 8H), 4,85-4,6 (m, 2H), 4,45 (m, 1H), 3,6/3,45 (s, 3H), 10 3,3 (m, 1H), 3,1/3,05 (dd, 1H).

tert. Butyl-(6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)-acetat (4)

15 a) (E,Z)-Methyl-(6-oxo-5,6-dihydro-11H-dibenzo[b,e]azepin-11-yliden)acetat (62 g, 279,2 mmol) wurden in 1,8 l Dioxan mit 3,2 g Pd (10 % auf Kohle) bei 60°C und 130 bar 60 h lang hydriert. Filtration über Celite und Einengen des Filtrats ergaben 62,3 g weiße Festkörper, die anschließend mit 20 n-Pentan verrührt wurden.

58,7 g; ESI-MS $[M+H^+]$ = 282;
 b) Methyl-(6-oxo-5,6-dihydro-11H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat (25 g, 88,7 mmol) wurden in 145 ml Dioxan/H₂O 4:1 gelöst, 25 4,98 g KOH zugegeben und auf Rückfluß erhitzt. Nach 2 h wurden erneut 2,5 g KOH zugesetzt. Nach beendeter Reaktion wurde die Reaktionsmischung aufkonzentriert, mit H₂O versetzt, mit 2n HCl ein pH von 2 eingestellt und anschließend 30 2x mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und eingeengt. Das so erhaltene Rohprodukt wurde mit n-Pentan verrührt und getrocknet.

35 21,5 g, ESI-MS $[M+H^+]$ = 268,05

c) (6-Oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat (18,8 g; 70,34 mmol) wurden in 80 ml Benzol suspendiert und auf Rückfluß erhitzt. Über einen Zeitraum von 1 h wurden 40 5,3 eq. Dimethylformamid-di-tert.butylacetal (75,9 g) zugeropft. Nach beendeter Reaktion wurde eingedampft, der Rückstand in CH₂Cl₂ aufgenommen, mit NaHCO₃- und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet und eingeengt. Der so erhaltene braune Feststoff wurde durch Verrühren mit Methyl-tert.Butylether 45 gereinigt.

26,9 g; ESI-MS $[M-tBu+H^+]$ = 268,05;

¹H-NMR (270 MHz, DMSO-d6): d (ppm) 10,55 (s, 1H), 7,8-7,0 (m, 8H), 4,35 (m, 1H), 2,75 (d, 2H), 1,2 (s, 9H).

5 Ethyl-3-[11-(2-tert-butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]az-epin-5-yl]propanoate (5)

tert. Butyl-(6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat 4 (2 g, 6,18 mmol) wurde in 25 ml trockenem DMF gelöst, bei 10°C 10 2,1 eq. KOTBu (1,5 g) zugesetzt und ca. 20 min. nachgerührt. Anschließend wurden bei RT 2,5 g Brompropionsäureethyl-ester zugetropft, 1 h bei RT nachgerührt, und erneut KOTBu (0,2 g) und Brompropionsäure-ethyl-ester (0,8 g) zugegeben. Nach weiteren 15 2 h wurde die Mischung mit CH₂Cl₂ verdünnt, mit H₂O gewaschen, getrocknet und eingeengt. Chromatographie an Kieselgel (CH₂Cl₂/CH₃OH 1 bis 25 %) ergab 1,2 g des gewünschten Produkts und 2,0 g nicht umgesetztes Edukt.

ESI-MS [M+H⁺] = 424,15

20 3-[11-(2-tert-Butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]az-epin-5-yl]propanoate (6)

Ethyl-3-[11-(2-tert-butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]az-epin-5-yl]propanoate 5 (2,55 g, 6,02 mmol) wurde in 25 15 ml Dioxan/H₂O 2:1 gelöst, 0,17 g LiOH zugesetzt und bei RT gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde mit 2n HCl angesäuert, mit CH₂Cl₂ versetzt, mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet und eingeengt.

30 2,35 g; ESI-MS [M-tBu+H⁺] = 340,15;

1H-NMR (DMSO-d6, 200 MHz) Diastereomerengemisch: d (ppm) 7,75-7,05 (m, 8H), 4,8-3,8 (m, 3H), 3,5-3,1 (m, überlagert mit H₂O), 2,75 (m, 2H, 1,3/1,2 (s, 9H).

35 [6-(4,5-Dihydro-1H-imidazol-2-yl)-3-pyridinyl]methylcarbamat (Trifluoracetat) (7)

a) tert-Butyl-(6-cyanopyridin-3-yl)methylcarbamat (5,0 g, 40 21,43 mmol) in 300 ml CH₃OH wurden mit 3,55 g Natrium-methanolat versetzt. Nach 1 h bei RT wurden 2,6 g Ethylen-diamin (Hydrochlorid) zugegeben und über Nacht gerührt. Die Reaktionsmischung wurde eingedampft und der erhaltene Rückstand mit einer Mischung aus 100 ml CH₂Cl₂ und 1 ml CH₃OH ver-45 rührt. Unlösliche Festkörper wurden abgesaugt, das Filtrat eingeengt, der Rückstand in H₂O aufgenommen und erneut mit

84

CH₂Cl₂ gewaschen. Eindampfen der wäßrigen Phase ergab 5,3 g eines weißen Festkörpers; ESI-MS [M+H⁺] = 277.25.

5 b) 0,9 g des Boc-geschützten Amins in 20 ml CH₂Cl₂ wurden mit 10 ml TFA versetzt und 2 h bei 0°C gerührt. Eindampfen der Reaktionsmischung ergab 1,75 g eines gelblichen Öls, das direkt weiter eingesetzt wurde.

10 Das zur weiteren Umsetzung benötigte Amin wurde durch Abspaltung der Boc-Gruppe mit TFA (unter Standardbedingungen) erhalten; die isolierten TFA-Salze wurden dann direkt in den entsprechenden Kupplungen eingesetzt.

15 tert-Butyl 1H-Benzimidazol-2-ylmethylcarbamat (8)

Zu tert-Butylcyanomethylcarbamat (3 g; 19,21 mmol) in 20 ml CH₃OH wurden 3,32 g einer 30 % NaOCH₃-Lsg. gegeben und 1 h lang bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von 3,4 g 1,2-Phenylen-diamin-bis-hydrochlorid wurde über Nacht weitergerührt, dann die 20 Reaktionsmischung auf 100 ml H₂O gegeben, filtriert und der so erhaltene Feststoff im Vakuum getrocknet.

25 3,45 g; ESI-MS [M+H⁺] = 248,15;
¹H-NMR (270 MHz; DMSO-d6) δ (ppm) 12,60 (s, 1H), 7,30-7,15 (m 3H),
 7,05 (m 2H), 4,15 (d, 2H), 1,29 (s, 9H).

Das zur weiteren Umsetzung benötigte Amin wurde durch Abspaltung der Boc-Gruppe mit TFA (unter Standardbedingungen) erhalten; die isolierten TFA-Salze wurden dann direkt in den entsprechenden den 30 Kupplungen eingesetzt.

tert-Butyl 3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-ylmethylcarbamat (9)

Eine Mischung aus tert-Butylcyanomethylcarbamat (1,61 g; 35 10 mmol), 2,3-Diaminopyridin (0,56 g; 5 mmol), N-Acetyl-Cystein (1,68 g; 10 mmol) in 10 ml CH₃OH wurde für 89 h auf 50°C erhitzt. Anschließend wurde eingeengt, der Rückstand in wenig CH₃OH aufgenommen und über sauren Ionenaustauscher (Acetat auf polymeren Träger) filtriert. Erneutes Einengen und Chromatographie an 40 Kieselgel (CH₂Cl₂/CH₃OH 5 %) ergaben 1,09 g des gewünschten Produkts;

ESI-MS [M+H⁺] = 249,15
¹H-NMR (270 MHz; DMSO-d6) δ (ppm) 8,30 (m, 1H), 7,90 (m, 1H), 7,45 (m, breit, 1H), 7,20 (m 1H), 4,40 (d, 2H), 1,0 (s, 9H).

Das zur weiteren Umsetzung benötigte Amin wurde durch Abspaltung der Boc-Gruppe mit TFA (unter Standardbedingungen) erhalten; die isolierten TFA-Salze wurden dann direkt in den entsprechenden den Kupplungen eingesetzt.

5

[1-(2-Pyridinyl)-4-piperidinyl]methanamin (10)

a) tert. Butyloxycarbonyl-4-(aminomethyl)-1-piperidin (14 g; 65,33 mmol; Darstellung nach Prugh et al., Synthetic Communications 22 (16), 2361-2365 (1992)) wurde in 50 ml THF gelöst, bei 5°C N-Methylmorpholin (6,6 g) und Chlorameisen-säurebenzylester (12,6 g) zugesetzt und ca. 2 h lang nach-gerührt. Die Mischung wurde eingeengt, der Rückstand in CH_2Cl_2 aufgenommen, mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet und filtriert. Nach dem Einengen verblieben 23,5 g eines gelben Öls, das aus Methyl-tert.butylether kristallisiert wurde.

18 g; ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+]$ = 293,15

20 b) Zu tert-Butyloxycarbonyl-4-({[(benzyloxy)carbonyl]amino}-methyl)-1-piperidin 10a (15 g; 43,05 mmol) in 125 ml CH_2Cl_2 wurde bei 0°C 25 ml TFA gegeben, 20 min. bei 10°C und dann bei RT gerührt. Einengen der Mischung und Kristallisation des erhaltenen Rückstands aus Diethylether ergaben 14,5 g des freien Amins als TFA-Salz (ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+]$ = 249,25; Smp.: 109-110°C). 5 g des TFA-Salzes und 2,79 g Ethyldiisopropylamin (DIPEA) wurden in 15ml 2-Fluorpyridin auf Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Umsetzung wurde eingeengt, der Rückstand in Ethyl-acetat aufgenommen und 4x mit H_2O und ges. NaCl-Lsg. ge-waschen. Trocknen, Filtration und Einengen ergaben 4,49 g eines hellbraunen Öls, das aus n-Pentan kristallisiert wurde.

4,02 g; ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+]$ = 362,15

35 c) 3,9 g (10b) in 150 ml CH_3OH wurden mit 0,2 g Pd (10 % auf Kohle) unter Standardbedingungen hydriert. Filtration der Reaktionsmischung über Celite und Einengen ergaben 2,3 g; 40 ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+]$ = 192,15;

$^1\text{H-NMR}$ (270 MHz; DMSO-d_6) d (ppm) 8,1 (m, 1H), 7,5 (m, 1H), 6,8 (m, 1H), 6,55 (m, 1H), 4,3 (m, 2H), 2,7 (m 2H), 2,45 (m, 2H), 1,75 (m 2H), 1,5 (m 1H), 1,05 (m 2H).

45

86

tert-Butyloxycarbonyl-4-[(2-pyridinylamino)methyl]-1-piperidin
(11)

tert-Butyloxycarbonyl-4-(aminomethyl)-1-piperidin (3 g; 14 mmol) 5 und 10 ml 2-Fluorpyridin wurden für 4 h auf Rückfluß erhitzt. Einengen und Verrühren des Rohprodukts in n-Pentan ergaben 3 g eines weißen Feststoffes, Smp: 126-130°C;

ESI-MS $[M+H^+]$ = 292,15.

10

Das zur weiteren Umsetzung benötigte Amin wurde durch Abspaltung der Boc-Gruppe mit TFA (unter Standardbedingungen) erhalten; die isolierten TFA-Salze wurden dann direkt in den entsprechenden den Kupplungen eingesetzt.

15

N-[4-(Aminomethyl)benzyl]-2-pyridinamin (12)

a) 20 g 2-Aminopyridin wurden in 100 ml CH_3OH gelöst, mit iso-
20 propanolischer HCl auf pH 6 eingestellt und mit 36 g p-Cyan-

obenzaldehyd versetzt. 9,35 g Natriumcyanoborhydrid wurden portionsweise in 1 h zugegeben und über Nacht gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Suspension eingeengt, der Rückstand in 100 ml Wasser aufgenommen und mit KOH auf pH > 10 eingestellt. Die wässrige Phase wurde mit NaCl gesättigt und 3x 25 mit Diethylether extrahiert. Die Etherphase wurde nach Filtration eines Niederschlags noch 3x mit FeSO_4 -Lösung gewaschen, getrocknet und eingeengt. Reinigung des Rückstands durch Chromatographie an Kieselgel (Heptan Ethylacetat 1:1) ergab 28,15 g 4-[(2-Pyridinyl-amino)methyl]benzonitril.

30

b) 10 g 4-[(2-Pyridinyl-amino)methyl]benzonitril wurden in 280 ml ammoniakalischem Methanol gelöst, mit 10 g Raney-Nickel versetzt und 24 h hydriert. Es wurde abfiltriert, eingeengt und der Rückstand an Kieselgel (Ethylacetat/Ethanol 35 1:3) chromatographiert.

5,18 g, ESI-MS: $[M+H^+]$ = 214.

40

45

tert-Butyl [4-(1H-benzimidazol-2-yl)-1,3-thiazol-2-yl]methylcarbamat (13)

Analog zur Herstellung von 8 wurden zu tert-Butyl-(4-cyano-
 5 1,3-thiazol-2-yl)methylcarbamat (2,5 g; 10,45 mmol) in 25 ml CH₃OH
 1,89 g einer 30 % NaOCH₃-Lsg. gegeben und 2 h lang bei Raum-
 temperatur gerührt. Nach Zugabe von 1,9 g 1,2-Phenylendiamin-bis-
 hydrochlorid wurde über Nacht weitergerührt, dann die Reaktions-
 mischung auf 100 ml H₂O gegeben, filtriert und der so erhaltene
 10 Feststoff im Vakuum getrocknet.

3,0 g; ESI-MS: [M+H⁺] = 331,15,

¹H-NMR (400 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) 8,25 (s, 1H), 7,95 (m, 1H),
 15 7,65 (m, 1H), 7,55 (m, 1H), 7,2 (m, 2H), 4,55 (m, 2H), 1,45
 (s, 9H).

Das zur weiteren Umsetzung benötigte Amin wurde durch Abspaltung
 der Boc-Gruppe mit TFA (unter Standardbedingungen) erhalten; die
 20 isolierten TFA-Salze wurden dann direkt in den entsprechenden
 Kupplungen eingesetzt.

Di(tert-Butyl) 4-(1H-benzimidazol-2-yl)benzylimidodcarbonat (14)

25 Di(tert-Butyl) 4-cyanobenzylimidodcarbonat (10 g; 30,1 mmol)
 wurde in 200 ml Pyridin gelöst, 45 ml Triethylamin zugesetzt, bei
 0°C 1,5 h lang H₂S eingeleitet und über Nacht bei RT gehalten.
 Die Reaktionsmischung wurde im Vakuum eingedampft und mit Toluol
 zweimal koevaporiert. Verrühren des erhaltenen Rückstands in
 30 Diethylether ergab 8,5 g als weißer Feststoff.

Das Thioamid (6 g; 16,37 mmol) wurde in 40 ml CH₂Cl₂ suspendiert,
 mit 22,3 g CH₃I versetzt und über Nacht bei RT gerührt. An-
 schließend wurde die Mischung eingedampft, in 20 ml CH₃OH auf-
 35 genommen, 1,2-Phenylendiamin (1,95 g; 18,01 mmol) zugesetzt und
 erneut über Nacht bei RT gerührt. Einengen der Mischung ergab
 6,9 g als gelben Feststoff.

ESI-MS [M+H⁺] = 424,25;

40 Das zur weiteren Umsetzung benötigte Amin wurde durch Abspaltung
 der Boc-Gruppe mit TFA (unter Standardbedingungen) erhalten; die
 isolierten TFA-Salze wurden dann direkt in den entsprechenden
 Kupplungen eingesetzt.

[5-(2-Methoxy-2-oxoethyl)-11-oxo-5,11-dihydro-10H-dibenzo-[b,e][1,4]diazepin-10-yl]essigsäure (37)

a) Eine Mischung aus 5,10-Dihydro-11H-dibenzo[b,e][1,4]diazepin-11-on (10 g; 47,6 mmol; Herstellung gemäß Pharmazie 45, 1990, 555-559), 100 g Bromessigsäuremethylester, 0,5 g KI und 180 ml DMF wurde 110 h lang auf 60°C erhitzt. Einengen der Mischung, Chromatographie des Rohprodukts an Kieselgel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 3 → 5 %) und Kristallisation des erhaltenen Öls aus Ethylacetat ergab 7,1 g graue Festkörper; ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+]$ = 283

¹H-NMR (400 MHz; DMSO-d₆): δ (ppm) 10.3 (s, 1H), 7.65 (d, 2H), 7.45 (m, 2H), 7.05-7.2 (m, 4H), 4.75 (d, 2H), 3.6 (s, 3H).

b) Zu einer Suspension von 1,3 g NaH (60 %; entölt mit n-Pentan) in 10 ml DMF wurde bei 5°C eine Lösung von Methyl(11-oxo-10,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e][1,4]diazepin-5-yl)acetat 37a (7 g; 24,8 mmol) in 40 ml DMF zugetropft und zur vollständigen Bildung des Anions ca. 30 Min. gerührt. Anschließend wurde Bromessigsäuretertbutylester (5,4 g, 27,7 mmol) zugesetzt und ca. 2 h bei 10°C nachgerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Mischung mit H₂O versetzt, mit CH_2Cl_2 verdünnt und mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen. Trocknen und Einengen der CH_2Cl_2 -Phase ergaben ein schwarzes Öl, das durch Chromatographie an Kieselgel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 2 → 10 %) gereinigt wurde; 7,8 g; ESI-MS $[\text{M} - \text{tBu} + \text{H}^+]$ = 341

c) tert. Butyl[5-(2-methoxy-2-oxoethyl)-11-oxo-5,11-dihydro-10H-dibenzo[b,e][1,4]diazepin-10-yl]acetat 37b (7,8 g; 19,67 mmol) in 15 ml CH_2Cl_2 wurde mit 10 ml TFA versetzt und 2 h bei RT gerührt. Einengen der Mischung und Trocknen ergaben 7,4 g braune Festkörper; ESI-MS $[\text{M} + \text{H}^+]$ = 341

35 N-[4-(Aminomethyl)-1,3-thiazol-2-yl]-N'-benzylharnstoff (Hydrochlorid) (38)

a) Zu von 2-(2-Oxopropyl)-1H-isoindol-1,3(2H)-dion (70 g; 0,345 mol) in 600 ml THF wurde eine Lösung von 123 g Pyridiniumbromid-Perbromid in 600 ml THF langsam zugetropft und die Mischung ca. 3 h lang nachgerührt. Zur Aufarbeitung wurden die ausgefallenen Festkörper abfiltriert, die Mutterlauge eingeengt, in Ethylacetat aufgenommen und mit wässriger Bisulfit-Lösung gründlich gewaschen. Trocknen und einengen ergab 150 eines gelben Öls, das mit Methyl-tert.butylether verrührt wurde. 63,4 g; Fp.: 142 bis 143°C; ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+]$ = 283,95

89

b) 2-(3-Bromo-2-oxopropyl)-1*H*-isoindol-1,3(2*H*)-dion 38a (6 g; 21,27 mmol) und Thioharnstoff (2 g; 26,27 mmol) wurden in 70 ml THF ca. 2 h bei RT gerührt. Der entstandene Niederschlag wurde abgesaugt und getrocknet.

5 5 g; ESI-MS [M+H⁺] = 260,05

c) 2-[(2-Amino-1,3-thiazol-4-yl)methyl]-1*H*-isoindol-1,3(2*H*)-dion Hydrobromid 38b (4,5 g; 13,23 mmol), Benzylisocyanat (1,8 g, 13,52 mmol) und 1,7 g DIPEA wurden in 50 ml Toluol auf Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Umsetzung wurde die Mischung eingedampft, der Rückstand in CH₂Cl₂ aufgenommen und mit 1 n HCl-, ges. NaHCO₃- und NaCl-Lösung gewaschen. Trocknen und Einengen ergab 4,7 g orange Festkörper, die aus CH₃OH umkristallisiert wurden.

10 15 3,0 g; ESI-MS [M+H⁺] = 393,05

¹H-NMR (360 MHz, DMSO) δ ppm: 10.65 (s, 1H), 7.9 (m, 4H), 7.25 (m, 5H), 6.85 (s, 1H), 4.7 (s, 2H), 4.35 (d, 2H),

20 d) *N*-Benzyl-*N'*-{4-[(1,3-dioxo-1,3-dihydro-2*H*-isoindol-2-yl)-methyl]-1,3-thiazol-2-yl}harnstoff 38c (3 g; 7,64 mmol) wurde in 50 ml CH₃OH suspendiert, 2 g Hydrazinhydrat zugegeben und dann 2 h bei RT gerührt. Die entstandenen Festkörper wurden abfiltriert, die erhaltene Mutterlauge eingedampft und mit 25 0,5 n HCl verrührt. Erneute Filtration und Eindampfen der Mutterlauge führte zu einer Anreicherung des gewünschten Produkts, dieser Reinigungs schritt wurde deshalb 3x wiederholt.

25 30 0,78 g; ESI-MS [M+H⁺] = 263,05

{[4-(Aminomethyl)-1,3-thiazol-2-yl]guanidin (Bishydrochlorid) (39)}

a) 2-(3-Bromo-2-oxopropyl)-1*H*-isoindol-1,3(2*H*)-dion 38a (10 g; 35 35,45 mmol) und 2-Imino-thiobiuret (4,6 g; 38,99 mmol) wurden in 150 ml THF ca. 2d bei RT gerührt. Der entstandene Niederschlag wurde abgesaugt und getrocknet; 11,4 g; ESI-MS [M+H⁺] = 302,15.

40 b) 5 g 39a wurden analog zu 38d mit Hydrazinhydrat in CH₃OH behandelt. Verröhren des erhaltenen Rohprodukts mit 0,5n HCl und anschließend mit Ethanol ergab 3,16 g; ESI-MS [M+H⁺] = 172,05.

N-[4-(Aminomethyl)benzyl]-N'-benzylharnstoff (40)

340 mg (2,5 mmol) Diamino-p-xylol wurden in 15 ml Acetonitril vorgelegt, auf 0 bis 5°C gekühlt, innerhalb 5 min mit 0,29 ml

5-Benzylisocyanat versetzt und die Mischung bei RT noch 16 h gerührt. Die entstandene Suspension wurde in Wasser gegeben, der Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet (402 mg). ESI-MS $[M+H^+]$ = 270.

10 N-[3-(Aminomethyl)phenyl]-N'-benzylharnstoff (Hydrochlorid) (41)

a) 4,7 g (25 mmol) m-Nitrobenzylamin wurden in 250 ml CH_2Cl_2 gegeben, 1,36 ml DIPEA zugegeben und die Mischung unter Rückfluß gekocht, bis das Benzylamin gelöst vorlag. Die

15 Lösung wurde auf 0°C gekühlt, Di-tert. Butylcarbonat (1,1 eq.) tropfenweise zugegeben. Die Mischung wurde dann 16h bei RT nachgerührt, anschließend die Lösung mit Wasser und ges. $NaHCO_3$ -Lsg. extrahiert. Die organ. Phase wurde getrocknet und eingeengt und der erhaltene Rückstand aus 30 ml Diethylether 20 kristallisiert (5,07 g).

b) 4,69 g der vorstehenden Nitroverbindung wurden in 50 ml Ethanol gelöst und mit 460 mg 5 % Pd auf Aktivkohle bei Normaldruck hydriert. Die Umsetzung war nach 2 h beendet.

25 Es wurde filtriert, das Filtrat eingeengt und das zurückbleibende Öl direkt weiter umgesetzt (3,80 g).

c) Das Öl wurde in 100 ml THF gelöst, 3,66 ml DIPEA und danach 30 tropfenweise 2,60 g Benzylisocyanat zur Lösung zugegeben. Die Mischung wurde 16 h bei RT, dann 6 h unter Rückfluß und dann nochmals 16 h bei RT gerührt. Es wurde eingeengt, aus 30 ml Ethylacetat kristallisiert und der erhaltene Niederschlag abgesaugt und getrocknet; 4,90 g; ESI-MS [Carbaminsäure-fragment $+H^+$] = 300.

35 d) Die Boc-Verbindung wurde in 20 ml THF gelöst und mit 5 ml HCl in Diethylether (gesättigt bei 0°C) versetzt. Nach 1 h wurden weitere 15 ml HCl in Diethylether zugesetzt und noch 16 h gerührt. Der gebildete Niederschlag wurde abgesaugt, mit THF 40 und Diethylether gewaschen und getrocknet (3,72 g). ESI-MS $[M+H^+]$ = 256.

3-Amino-N-(1*H*-imidazol-2-yl)propanamid (42)

a) Z- β -Alanin (10 g; 44,8 mmol) wurden in 200 ml DMF gelöst und 15,86 g (3,5 eq) N-Methylmorpholin und 5,9 g (0,5 eq) 5 2-Aminoimidazolsulfat zugegeben. Bei -10°C wurden 7,87 g (1,3 eq) HOBT und 11,16 g (1,3 eq) N'-(Dimethylaminopropyl)-N-ethylcarbodiimid zugegeben, und 1 h unter Erwärmung auf RT und dann 18 h gerührt. Es wurden 150 ml Diethylether hinzugegeben, worauf ein weißer Feststoff ausfiel, der abgesaugt 10 wurde. Der Rückstand wurde mit kaltem Diethylether gewaschen, in Ethylacetat suspendiert und mit 1n HCl bis zur sauren Reaktion versetzt. Die wäßrige Lösung wurde 1x mit Ethylacetat extrahiert, dann die wäßrige Phase mit 10 % NaOH bei 4°C auf basischen pH gebracht. Der entstehende Niederschlag 15 wurde abgesaugt und mit Wasser gewaschen. 5,4 g; ESI-MS $[M+H^+]$ = 289,05.

b) 5,3 g der Z-Verbindung 42a wurden in 250 ml Ethanol suspendiert und 530 mg 10 % Pd auf Aktivkohle zugegeben. Es wurde 20 18 h bei RT mit H₂ hydriert, anschließend mit CH₃OH verdünnt und die Suspension aufgekocht, worauf der Produktniederschlag sich auflöste. Filtrieren und Einengen der Lösung ergaben 1,5 g; ESI-MS $[M+H^+]$ = 155,05.

25 4-(Aminomethyl)-N-benzylpiperidin-1-carboxamid (43)

a) Benzyl-4-(aminomethyl)-1-piperidinecarboxylat (Trifluoracetat). (4 g; 11,04 mmol; Herstellung wie in 10b beschrieben) wurde in 60 ml Toluol suspendiert, und mit 1,43 g DIPEA und 30 Benzylisocyanat (1,62 g, 12,14 mmol) 4 h auf Rückfluß erhitzt. Nach dem Eindampfen der Reaktionsmischung wurde der Rückstand in CH₂Cl₂ aufgenommen, je 2x mit 1n HCl- und ges. NaCl-Lösung extrahiert, die organische Phase getrocknet und eingeengt. 35 4,2 g; ESI-MS $[M+H^+]$ = 382,25.

b) 4 g Benzylharnstoff 43a wurden in einer Mischung aus Ethylacetat/CH₃OH 3:1 in der Wärme gelöst, 0,2 g 10 % Pd auf Aktivkohle zugesetzt und unter Standardbedingungen bei 35 40 bis 40°C hydriert. Nach beendeter Reaktion wurde über Celite abfiltriert und eingedampft. 2,8 g; ESI-MS $[M+H^+]$ = 248,15.

45 ¹H-NMR (400 MHz, DMSO) δ ppm: 7.4-7.15 (m, 11H), 7.05 (t, 1H), 5.08 (s, 2H), 4.25 (d, 2H), 3.95 (d, 2H), 2.8 und 2.65 (je m, 2H), 1.6 (m, 3H), 0.95 (m, 2H).

92

[4-(1H-Benzimidazol-2-yl)-thien-2-yl]methanamin (Trifluoracetat) (44)

Das als Edukt verwendete tert-Butyl-(4-cyanothien-2-yl)methylcarbamat wurde nach Standardmethoden aus 5-(Aminomethyl)-3-thiophencarbonitril (WO 98/06741) hergestellt.

a) Zu tert-Butyl-(4-cyano-thien-2-yl)methylcarbamat (5 g; 20,98 mmol) in 70 ml CH₃OH wurden 3,6 g einer 30 % NaOCH₃-Lsg. gegeben und 2 h lang bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von 3,6 g 1,2-Phenyldiamin-bis-hydrochlorid wurde über Nacht weitergerührt, dann die Reaktionsmischung auf 50 ml H₂O gegeben und mit CH₂Cl₂ extrahiert. Trocknen und Einengen der organischen Phase ergab 4,3 g eines gelben Feststoffs, der durch Chromatographie an Kieselgel (CH₂Cl₂/CH₃OH 1 → 10 %) gereinigt wurde.
1,6 g; ESI-MS: [M+H⁺] = 333,15.

b) 1,5 g der Boc-Verbindung 44a wurden in 10 ml CH₂Cl₂ gelöst, bei 0°C 15 ml TFA zugesetzt und 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Eindampfen der Reaktionsmischung und Verrühren mit n-Pentan ergaben 1,5 g des Amins als Trifluoracetat.

[5-(1H-Benzimidazol-2-yl)thien-2-yl]methanamin (45)

Die Herstellung erfolgte analog zu 44 ausgehend von 5-(Aminomethyl)thiophen-2-carbonitril (Herstellung gemäß WO 95/23609). Das nach TFA-Spaltung erhaltene Rohprodukt wurde in Wasser gelöst, 2x mit Diethylether extrahiert, die wässrige Phase auf pH 10-11 gebracht und anschließend 2x mit Ethylacetat extrahiert. Die wässrige Phase wurde mit NaCl gesättigt und nochmals mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden getrocknet und eingeengt (6,3 g); ESI-MS [M+H⁺] = 230,1.

2-(Piperidin-4-ylamino)pyridin (46)

a) Ethyl-4-aminol-piperidincarboxylat (6 g, 34,8 mmol) und 25 g 2-Fluorpyridin wurden 48 h lang auf Rückfluß erhitzt. Der nach dem Abkühlen gebildete Feststoff wurde abgesaugt, mit n-Pentan verrührt und getrocknet; 6,26 g gelbes Pulver; ESI-MS [M+H⁺] = 250,15.

b) 6 g Ethyl 4-(pyridin-2-ylamino)piperidin-1-carboxylat 46a wurden in 30 ml 47 % HBr 6 h auf Rückfluß erhitzt. Eindampfen der Mischung, Verrühren des erhaltenen Rohprodukts mit Ethylacetat/CH₃OH (9:1) und erneutes Trocknen ergab 7,1 g weißer Festkörper; ESI-MS [M+H⁺] = 178,15.

N-[4-(Aminomethyl)phenyl]-1H-benzimidazol-2-amin (Hydrochlorid) (47)

a) Zu einer Lösung von 24,5 g Thiocarbonyldiimidazol und 1,56 g 5 Imidazol in 600 ml CH₃CN wurden bei 0°C 20 g tert-Butyl-4-aminobenzylcarbamat (89,97 mmol) - gelöst in 100 ml CH₃CN - zugetropft und über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurden 10 19,5 g 1,2-Phenylendiamin zugesetzt und erneut 2 h bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung im Vakuum eingedampft, der Rückstand in CH₂Cl₂ aufgenommen, 7x mit 10 % Citronensäure- und 2x mit ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingeengt. Das so erhaltene Rohprodukt (31,78 g; brauner Schaum) wurde direkt ohne weitere Reinigung direkt umgesetzt; ESI-MS [M+H⁺] = 373,15.

15 ¹H-NMR (360 MHz, DMSO) δ ppm: 9.5 und 9.05 (je s, 1H), 7.45 (d, 2H), 7.35 (m, 1H), 7.20 (d, 1H), 7.15, 6.95, 6.75, 6.60 (je m, 1H), 4.85 (s, 2H), 4.10 (d, 2H), 1.35 (s, 9H).

20 b) Rohprodukt 47a wurde zusammen mit 36,7 g HgO (gelb) und 0,4 g Schwefel in 750 ml Ethanol gelöst und 2 h auf Rückfluß erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde anschließend zweimal über Celite filtriert und zur Trockene eingedampft; 20,7 g, ESI-MS [M+H⁺] = 339,15.

25 c) 7 g des Rohprodukts 47b wurden in 70 ml CH₂Cl₂ vorgelegt, 35 ml HCl in Diethylether (ges. bei 0°C) zugesetzt und 2 h bei RT nachgerührt. Der entstandene Niederschlag wurde abgesaugt, mit CH₂Cl₂ nachgewaschen und getrocknet.

30 6.7g brauner amorpher Feststoff; ESI-MS [M+H⁺] = 239.15

¹H-NMR (360 MHz, DMSO) δ ppm: 11.6 (s breit, 1H), 8.4 (s breit, 3H), 8.25 (s breit, 1H), 7.65 und 7.55 (je d, 2H), 7.45 und 7.3 (je m, 2H), 4.19 (m, 2H).

35 N¹-(1H-Benzimidazol-2-yl)pentan-1,5-diamin (Hydrochlorid) (48)

Die Darstellung erfolgte analog zur Synthese von 47 ausgehend von 7 g N-Boc-1,5-Diaminopentan-Hydrochlorid (29,3 mmol). 40 Nach Umsetzung analog zu 47a wurden 10,3 g N-Boc-5-[(2-aminoanilino)carbothioyl]amino}pentan-1-amin erhalten; ESI-MS [M+H⁺] = 353,25. Cyclodesulfurierung und anschließende Abspaltung der Boc-Gruppe mit TFA ergab ein öliges Rohprodukt, das in CH₃OH aufgenommen und mit 250 ml etherischer HCl (gesättigt bei 0°C) 45 in das entsprechende Hydrochlorid überführt wurde. Verrühren der erhaltenen Festkörper mit einer Mischung aus CH₃OH/Methyl-tert.-butylether ergab 1,8 g eines rötlichen amorphen Feststoffs.

94

¹H-NMR (360 MHz, DMSO) δ ppm: 9.30 (t, 1H), 8.15 (s breit, 3H), 7.40 und 7.25 (je m, 2H), 3.35 (m, 2H überlagert mit H₂O-Peak), 2.80 (m, 2H), 1.65 (m, 4H), 1.45 (m, 2H).

5 N¹-(1H-Benzimidazol-2-yl)butan-1,4-diamin (Trifluoracetat) (49).

Die Darstellung erfolgte analog zur Herstellung von Verbindung 47 ausgehend von 9,87 g N-Boc-1,4-Diaminobutan (52,3 mmol). Nach Umsetzung analog zu 49a wurden 17,08 g 3 g N-Boc-4-{{(2-amino-10 anilino)carbothioyl]amino}butan-1-amin erhalten; ESI-MS [M+H⁺] = 338,99.

Nachfolgende Cyclodesulfurierung und Boc-Abspaltung mit TFA ergab einen braunen Feststoff, der mehrmals mit n-Pentan verrührt und dann aus einer Mischung aus CH₃OH/Methyl-tert.butylether um-15 kristallisiert wurde; 14.35g, ESI-MS [M+H⁺] = 205.15.

¹H-NMR (360 MHz, DMSO) δ ppm: 9.20 (t, 1H), 7.80 (s breit, 3H), 7.35 und 7.20 (je m, 2H), 3.40 (m, 2H teilweise überlagert mit H₂O-Peak), 2.80 (m, 2H), 1.65 (m, 4H).

20 N-(Piperidin-4-ylmethyl)-1H-benzimidazol-2-amin (Trifluoracetat) (50)

a) Zu 6,75 g Thiocarbonyldiimidazol und 0,5 g Imidazol in 100 ml CH₃CN wurde bei 0°C eine Lösung von *tert*.Butyloxycarbonyl-1-4-(aminomethyl)-1-piperidin (5,39 g; 25 mmol) in 25 ml CH₃CN zugetropft und 3 h bei RT nachgerührt. Anschließend wurde 1,2-Phenylendiamin (5,5 g; 50,86 mmol) zugesetzt und ca. 1 h lang auf 60°C erhitzt. Der beim Abkühlen entstandene Feststoff wurde abgesaugt und getrocknet. 6,79 g; ESI-MS [M+H⁺-tBu] = 309,15.

b) *tert*-Butyloxycarbonyl-4-{{(2-aminoanilino)carbothioyl]-amino}methyl}1-piperidin 50a (5 g; 13,72 mmol), 5,94 g HgO (gelb) und 0,6 g Schwefel in 150 ml Ethanol wurden 1 h lang auf Rückfluß erhitzt. Die Mischung wurde 2x über Celite filtriert, eingedampft und das erhaltene Rohprodukt durch Chromatographie an Kieselgel (CH₂Cl₂/CH₃OH 5 → 25 %) gereinigt.

40 2,65 g; ESI-MS [M+H⁺] = 331,25.

¹H-NMR (360 MHz, DMSO) δ ppm: 7.15 und 6.9 (je m, 2H), 3.95 (d, 2H), 3.2 (m 2H), 2.7 (br m; 2H), 1.8 (m, 1H), 1.7 (m, 2H), 1.35 (s, 9H), 1.05 (m, 2H).

95

c) *tert*-Butyloxycarbonyl-4-[(1*H*-benzimidazol-2-ylamino)methyl]-1-piperidin 50b (2,65 g; 8,02 mmol) wurde nach Standardbedingungen mit 10 ml TFA behandelt. Einengen und Verrühren des Rohproduktes mit n-Pentan ergaben 2,3 g; ESI-MS [M+H⁺] = 231,15.

10 ¹H-NMR (360 MHz, DMSO) δ ppm: 13.25 (s, 1H), 9.35 (m, 1H), 8.8 und 8.5 (je br s, 1H), 7.4 und 7.20 (je m, 2H), 3.3 (m, 4H), 2.85 (m, 2H), 1.9 (m, 3H), 1.35 (m, 2H).

10 **11** N-[4-(Aminomethyl)-1,3-thiazol-2-yl]pyridin-2-amin (Bishydrochlorid) (51)

15 a) 2-Aminopyridin (11 g; 116,9 mmol) und Benzylisothiocyanat (21 g; 128,7 mmol) wurden in 250 ml Aceton 3 h lang auf Rückfluß erhitzt. Anschließend wurde die Mischung eingedampft und der erhaltene Rückstand erst mit Aceton/n-Pentan und dann nur mit n-Pentan verrührt.

21,4 g; ESI-MS [M+H⁺] = 258,05.

20 b) *N*-Benzoyl-*N'*-pyridin-2-ylthioharnstoff 51a (5 g; 19,43 mmol) wurde in 100 ml einer Mischung aus Aceton/CH₃OH vorgelegt, 1,34 g K₂CO₃ in 5 ml H₂O zugesetzt und 2 h auf Rückfluß erhitzt. Zur Aufarbeitung wurden der gebildete Niederschlag 25 abfiltriert, die Mutterlauge eingedampft und der erhaltene Rückstand auf H₂O gegeben. Extraktion mit CH₂Cl₂, Trocknen und Eindampfen der organischen Phasen ergaben 5,4 g; ESI-MS [M+H⁺] = 154,05.

30 ¹H-NMR (270 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 10.65 (s, 1H), 10.55 (s, 1H), 8.9 (s, 1H), 8.25, 7.75, 7.20, 7.10 (je m, 1H).

35 c) *N*-Pyridin-2-ylthioharnstoff 51b (5 g; 35,9 mmol) und 2-(3-Bromo-2-oxopropyl)-1*H*-isoindol-1,3(2*H*)-dion (9,1 g; 32,26 mmol) wurden in 500 ml THF 2 h lang bei RT gerührt. Der gebildete Niederschlag wurde abfiltriert und getrocknet. 12,3 g weiße Festkörper; ESI-MS [M+H⁺] = 337,05.

40 d) Die Abspaltung der Phtaloylgruppe wurde analog ausgehend von 2-[(2-(Pyridin-2-ylamino)-1,3-thiazol-4-yl)methyl]-1*H*-isoindol-1,3(2*H*)-dion 51c (10 g; 23,96 mmol) mit 7 g Hydrazinhydrat in 250 ml CH₃OH durchgeführt. Anschließende Aufarbeitung ergab 4,15 g gelbe Festkörper; ESI-MS [M+H⁺] = 207,05.

45

96

N-[5-(Aminomethyl)-1,3-thiazol-2-yl]pyridin-2-amin (Bishydrochlorid) (52)

Die Herstellung erfolgte analog zu 51 unter Verwendung von 5 2-Chloro-3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-isoindol-2-yl)propanal (Herstellung gemäß THL 39 (1998), 8085-8088). Nach Spaltung der Phtaloylgruppe mit Hydrazinhydrat unter Standardbedingungen und Verrühren des Rohprodukts mit CH_2Cl_2 wurden 1,12 g gelbe Festkörper erhalten; ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+] = 207,05$.

10

N-[5-(Aminomethyl)-1,3-thiazol-2-yl]guanidin (Dihydrochlorid) (53)

a) 31 g (130 mmol) 2-Chloro-3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-isoindol-2-yl)propanal (Herstellung gemäß THL 39 (1998), 8085-8088) und 15,4 g Amidinothioharnstoff wurden in 200 ml n-Butanol 75' lang auf 110°C erhitzt, danach die Mischung eingedampft und der Rückstand mit CH_2Cl_2 und konz. NH_3 versetzt. Eindampfen der organischen Phase, Reinigung des 15 Rückstands durch Chromatographie an Kieselgel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 0 bis 5 %) und Kristallisation aus Aceton ergaben 12,3 g 20 $\text{N}\{-\{(\text{1,3-Dioxo-1,3-dihydro-2H-isoindol-2-yl)methyl}\}-1,3\text{-thiazol-2-yl}\}$ guanidin.

25 b) 1 g 53a in 20 ml CH_3OH wurde mit 0,81 ml Hydrazinhydrat versetzt und 2 h lang bei RT gerührt. Anschließend wurde die Mischung auf 0°C abgekühlt, filtriert, das Filtrat eingeengt und mit verdünnter HCl verrührt. Dieser Vorgang wurde mehrmals wiederholt, und das auf diese Weise erhaltene Rohprodukt 30 anschließend mit Ethanol verrührt; 0,92 g weiße Festkörper, ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+] = 172,05$.

tert-Butyl-2-[4-(1H-Benzimidazol-2-yl)phenyl]ethylcarbamat (54)

35 Die Herstellung erfolgte analog zur Synthese von Baustein 14 ausgehend von tert-Butyl-2-(4-cyanophenyl)ethylcarbamat. Das nach Umsetzung mit H_2S , Alkylierung mit CH_3I und Reaktion mit 1,2-Phenyldiamin erhaltene Rohprodukt wurde durch Chromatographie an Kieselgel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 4 bis 50 %) gereinigt (4,8 g); 40 ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+] = 338,15$.

→ das zur weiteren Umsetzung benötigte Amin wurde durch Abspaltung der Boc-Gruppe mit TFA (unter Standardbedingungen) erhalten; die isolierten TFA-Salz wurden dann direkt in den 45 entsprechenden Kupplungen eingesetzt.

97

N-{{[5-(Aminomethyl)thien-3-yl]methyl}pyridin-2-amin (Trifluoracetat) (55)

a) Eine Lösung von *tert*-Butyl-(4-cyanothien-2-yl)methylcarbamat (7 g; 29,4 mmol) in 120 ml Ethanol wurde mit NH₃ gesättigt und dann in Gegenwart von Ra-Ni (9 g wäßrige Suspension; mit Ethanol abdekantiert) unter Standardbedingungen hydriert. Filtration der Reaktionsmischung, Eindampfen und Chromatographie des erhaltenen Rückstands an Kieselgel (CH₂Cl₂/CH₃OH plus wäßr. NH₃) ergaben 4,4 g des Amins als gelbliches Öl.

5 b) 1,2 g des Amins 55a (4,3 mmol), 0,6 g Ethyldiisopropylamin und 15 g 2-Fluorpyridin wurden 20 h auf Rückfluß erhitzt. Der nach Eindampfen der Mischung erhaltene Rückstand wurde 15 in CH₂Cl₂ aufgenommen, mit 0,1n HCl- und ges. NaCl-Lösung gewaschen, getrocknet und erneut eingedampft. 1 g; ESI-MS [M+H⁺] = 320,15.

c) 0,9 g des Boc-geschützten Amins 55b wurden in 10 ml CH₂Cl₂ 20 gelöst, bei 0°C 5ml TFA zugesetzt und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Eindampfen der Reaktionsmischung ergab 1,65 g eines bräunlichen Öls, das ohne weitere Reinigung direkt umgesetzt wurde (ESI-MS [M+H⁺] = 220,05).

25 N¹-Methyl-N²-pyridin-2-ylethan-1,2-diamin (Acetat) (56)

a) *tert*-Butyl 2-aminoethyl(methyl)carbamat (2,8 g; 16,1 mmol) und 19 ml 2-Fluorpyridin wurden ca. 23 h auf Rückfluß erhitzt. Eindampfen der Reaktionsmischung ergab 4 g eines braunen Öls (ESI-MS [M+H⁺] = 252,15), das direkt weiter umgesetzt wurde.

30 b) 2 g des Rohprodukts 13a wurden in 30 ml TFA über Nacht bei RT gerührt. Die Mischung wurde eingedampft und durch MPLC an RP-Kieselgel (CH₃CN/H₂O plus 0,1 % Essigsäure) gereinigt; 2,2 g; ESI-MS [M+H⁺] = 152,1.

N-[4-(Aminomethyl)phenyl]-2-pyridinamin (57)

40 Die Herstellung Synthese erfolgte analog zu 56 ausgehend von *tert*-Butyl-4-aminobenzylcarbamat. Es wurden 38 mg der Titelverbindung isoliert; ESI-MS [M+H⁺] = 200,15.

98

N-[4-(Aminomethyl)phenyl]-N'-benzylharnstoff (Trifluoracetat) (58)

a) 4-Aminobenzylamin (10,0 g, 81,85 mmol) in 150 ml CH_2Cl_2 wurde mit Triethylamin (6,8 g, 67,12 mmol) und dann bei 0°C mit Di-tert.-Butyldicarbonat (18,6 g, 85,00 mmol) versetzt. Die Mischung wurde 1 h bei 0°C und dann 2 h bei RT nachgerührt. Zur Aufarbeitung wurden 150 ml einer 1 % wäßrigen Citronensäure-Lösung zugegeben, die Phasen getrennt und die wäßrige Phase 2mal mit CH_2Cl_2 (150 mL) nachextrahiert. Erneutes Waschen mit H_2O , Trocknen der vereinigten organischen Phasen mit Na_2SO_4 und Eindampfen ergaben einen Feststoff, der mit wenig Diisopropylether ausgerührt, abgesaugt und getrocknet wurde.

15 13.0 g; ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+ + \text{tBu}] = 167.05$.

$^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.04 (2H, d), 6.61 (2H, d), 4.78 (1H, s br.), 4.17 (2H, d), 3.67 (2H, s br.), 1.46 (9H, s).

b) Zu einer Lösung des geschützten Amins 58a (4,0 g, 17,99 mmol) und Triethylamin (1,82 g, 18,00 mmol) in 220 ml Toluol/DMF 10:1 wurde unter Eiskühlung Benzylisocyanat (2,40 g, 18,00 mmol) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei RT gerührt. Ein Teil des gebildeten Harnstoffs konnte direkt als Niederschlag abfiltriert und getrocknet werden. Das Filtrat wurde 2mal mit H_2O , verdünnter Weinsäure bis pH 3 und erneut 2mal mit H_2O bis pH 5 gewaschen, die organische Phase dann getrocknet und eingedampft. Insgesamt wurden so 6,0 g erhalten; ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+ + \text{tBu}] = 300,15$.

c) Der so erhaltene Harnstoff 58b wurde in 90 ml CH_2Cl_2 vorgelegt, bei 0°C TFA (2,24 g, 196,25 mmol) - gelöst in 90 ml CH_2Cl_2 - zugetropft. Nach 3 h wurden erneut 1 ml TFA zugegeben, dann über Nacht bei RT gerührt. Nach erneuter Zugabe von 1 ml TFA wurden noch 5 h gerührt, dann die Mischung auf Eiswasser gegossen und mit Ethylacetat (2 x 50 ml) extrahiert. Die Wasserphase wurde mit 2n NaOH -Lösung basisch gestellt und mit CH_2Cl_2 (2 x 50 ml) extrahiert. Der unlösliche Anteil zwischen den Phasen wurde abfiltriert und getrocknet. 4 g; ESI-MS $[2\text{M}+\text{H}^+] = 511,35$.

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, DMSO) δ (ppm): 8.52 (1H, s), 7.39-7.07 (9H, m), 6.62 (1H, t), 4.27 (2H, d), 3.61 (2H, s).

99

[4-(Aminomethyl)phenyl]guanidin (Bishydrochlorid) (59)

p-Aminobenzylamin (6,7 g; 54,84 mmol) wurde in 20 ml 6n HCl suspendiert und unter Rückfluß 5,3 g Cyanamid - gelöst 5 ml H₂O - 5 langsam zugetropft. Nach beendeter Reaktion wurde die Lösung bei 0°C mit 50 % NaOH-Lösung versetzt, der entstandene Niederschlag abgesaugt, in 50 ml Ethanol aufgekocht und filtriert. Einengen der Mutterlauge und Verröhren des erhaltenen Rückstands mit Diethylether ergab 1,4 g gelbe Festkörper; Fp.: 255°C.

10

[4-(5-Chloro-1H-benzimidazol-2-yl)phenyl]methanamin (Trifluoracetat) (60)

Die Herstellung erfolgte analog zu Baustein 14 durch Umsetzung 15 mit 4-Chlor-1,2-diaminobenzol (104 mg); ESI-MS [M+H⁺]: 258,05, 129,6.

[4-(5,6-Dimethyl-1H-benzimidazol-2-yl)phenyl]methanamin (Trifluoroacetat) (61)

20

Die Herstellung erfolgte analog zu Baustein 14 durch Umsetzung mit 4,5-Diamino-o-Xylol (230 mg); ESI-MS [M+H⁺]: 253,1, 252,1, 147,1, 126,6.

25 N-[2-(4-Piperidinyl)ethyl]-2-pyridinamin (Tristrifluoracetat) (62)

Die Synthese erfolgte analog zu Baustein 56 ausgehend von 30 2-(4-Piperidinyl)ethanamin, das zuvor nach Standardbedingungen in das entsprechende tert-Butyl-2-(4-piperidinyl)ethylcarbamat überführt wurde. Es wurden 251 mg der Titelverbindung isoliert; ESI-MS [M-3CF₃COO⁻+H⁺]: 206,1, 103,7.

35 N-[2-(3-Pyrrolidinyl)ethyl]-2-pyridinamin (Tristrifluoracetat) (63)

Die Synthese erfolgte analog zu Baustein 56 ausgehend von 40 2-(3-Pyrrolidinyl)ethanamin, das zuvor nach Standardbedingungen in das entsprechende tert-Butyl-2-(3-pyrrolidinyl)ethylcarbamat überführt wurde. Es wurden 500 mg der Titelverbindung isoliert; ESI-MS [M-3CF₃COO⁻+H⁺]: 192,15.

100

{4-[(3-Phenylpropanoyl)amino]phenyl}methanamin (Hydrochlorid) (64)

a) 350 mg (1,66 mmol) 3-Phenylpropionsäure wurden in 20 ml THF gelöst und bei 0°C 1,24 g DIPEA und 2,23 ml 50 % Propanphosphonsäureanhydridlösung in THF zugesetzt. Nach 15 min wurden dann 350 mg (1,57 mmol) tert-Butyl 4-aminobenzylcarbamat in 5 ml THF zugetropft, die Mischung auf RT erwärmt und 16 h gerührt. Es wurde eingeengt, der Rückstand in 70 ml H₂O/Ethylacetat aufgenommen, die organische Phase mit ges. NaHCO₃-Lsg., 1 % Zitronensäure und H₂O gewaschen, getrocknet und eingeengt (500 mg); ESI-MS [M+H⁺-t-Butyl] = 299.

b) 880 mg (2,48 mmol) der vorstehenden Verbindung wurden in 20 ml THF gelöst und ca. 20 ml HCl in Diethylether (gesättigt bei 0°C) zugegeben. Die Lösung wurde dann 2d bei RT gerührt, der entstandene Niederschlag abfiltriert und getrocknet (700 mg); ESI-MS [M+H⁺-NH₄⁺] = 234.

20 (4-{[(Benzyl)oxy]carbonyl}amino)phenyl)methanamin (Hydrochlorid) (65)

a) 730 mg (3,28 mmol) tert-Butyl-4-aminobenzylcarbamat wurden in 20 ml THF gelöst, mit einer Lösung von 1,18 g NaHCO₃ in 10 ml Wasser versetzt und auf 0°C gekühlt. Zu dieser Mischung wurden 590 mg Benzylloxycarbonylchlorid getropft und bei RT über Nacht gerührt. Nach Einengen wurde der Rückstand 70 ml H₂O/Ethylacetat gelöst, die organische Phase abgetrennt und mit ges. NaHCO₃-Lsg., 1 % Zitronensäure und H₂O gewaschen. Trocknen und Einengen ergab 1,08 g; ESI-MS [M+Na⁺] = 379.

b) Das Produkt der Vorstufe wurde in 10 ml THF gelöst und mit 20 ml HCl in Diethylether (gesättigt bei 0°C) versetzt. Die Lösung wurde über Nacht gerührt und die entstandenen Kristalle abgesaugt (800 mg); ESI-MS [M+H⁺-NH₃] = 240.

[11-(2-tert-Butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-yl]acetat (66)

40 Alkylierung von tert-Butyl-(6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat (4) mit Bromessigsäuremethylester analog zur Synthese von Baustein 1 ergab 13,8 g eines leicht gelblichen Öls, das direkt weiter mit KOH in Dioxan/H₂O verseift wurde (11,2 g); ESI-MS [M+H⁺-tBu] = 326,15.

45

101

¹H-NMR (DMSO-d₆, 360 MHz) Diastereomerengemisch: δ (ppm): 7.80–7.0 (m, 8H), 4.8–4.6 (m, 2H), 4.55 (m, 1H), 3.6–3.1 (breites m, überlagert mit H₂O, 2H), 3.05 (m, 2H), 1.3/1.15 (s, 9H).

5 [6-(1H-Benzimidazol-2-yl)pyridin-3-yl]methanamin (Bistrifluoracetat) (67)

a) Die Herstellung erfolgte analog zu 13 ausgehend von *tert*-Butyl-(6-cyanopyridin-3-yl)methylcarbamat (6,0 g, 25,72 mmol); Kristallisation des Rohprodukts aus Ethanol ergab 5,15 g; ESI-MS [M+H⁺] = 325.

b) 0,55 g des Boc-geschützten Amins 16a in 10 ml CH₂Cl₂ wurden mit 5 ml TFA versetzt und 2 h bei RT gerührt. Eindampfen der Reaktionsmischung ergab 0,95 g eines weißen Feststoffs; ESI-MS [M+H⁺] = 225,25.

N¹-Pyrnidin-2-ylpropan-1,3-diamin (68)

20 2-Brompyridin (100 g; 0,633 mol) und 1,3-Diaminopropan (234,5 g; 3,16 mol) wurden 7 h lang auf Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Reaktion wurde die Mischung eingedampft, Destillation des verbliebenen Rückstands im Ölpumpenvakuum ergab 43 g des gewünschten Produkts; ESI-MS [M+H⁺] = 152,15.

25 ¹H-NMR (360 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.05 (d, 1H), 7.36 (t, 1H), 6.51 (t, 1H), 6.36 (d, 1H), 4.98 (s, 1H), 3.35 (s, 2H), 2.82 (t, 2H), 1.73 (m, 1H), 1.32 (s, 2H).

30 [(11E/Z)-11-(3-Methoxy-3-oxopropyliden)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-yl]acetat (69)

a) Zu 448 ml einer 1,5molaren Vinylgrignard-Lösung wurde unter Eiskühlung eine Suspension von 100 g (448 mmol) 5H-Dibenzo[b,e]azepine-6,11-dion in 2000 ml Toluol getropft. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt, dann 70 ml Eiswasser zugegeben, ausgefallene Salze abgesaugt, getrocknet und auf die Hälfte des ursprünglichen Volumens eingeengt. Absaugen und Trocknen des entstandenen Niederschlages lieferte insgesamt 64,2 g.

b) Eine Mischung aus 39 g 69a, 3 g Triphenylphosphin, 1 g PdCl₂ und 40 ml Ethanol wurden 20 h lang in einem 300-ml-Autoklaven bei 80 bis 100°C mit CO (550 bis 650 bar) behandelt. Der entstandene Niederschlag wurde abgesaugt, aus Eisessig umkristallisiert und anschließend mit CH₂Cl₂ verrührt (33 g; Fp.: >250°C).

102

[11-(3-Methoxy-3-oxopropyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo-[b,e]azepin-5-yl]acetat (70)

Hydrierung von 69 analog zur Herstellung von 2 ergab 100 mg

5 Methyl-3-[5-(2-tert-butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-di-
benzo[b,e]azepin-11-yl]propanoat, die anschließend mit TFA zu der
Titelverbindung umgesetzt wurden (90 mg); ESI-MS $[M+H^+]$ = 354,25.

((10E/Z)-10-(2-Methoxy-2-oxoethyliden)-4-oxo-4H-thieno-

10 [3,4-c][1]benzazepin-5(10H)-yl)acetat (71)

4H-Thieno[3,4-c][1]benzazepin-4,10(5H)-dion (Herstellung gemäß
EP 0209022; 0,9 g; 4,33 mmol) wurde nach Standardmethode mit
Methyldiethylphosphonacetat und Natriummethanolat als Base in
15 100 ml umgesetzt, Reinigung des Rohprodukts durch Chromatographie
an Kieselgel (CH_2Cl_2/CH_3OH 0 bis 2 %) und Verrühren in Diethyl-
ether ergab 1,1 g. Alkylierung mit Bromessigsäuretert.butylester
analog zu 2 und anschließende Esterspaltung mit TFA ergab 85 mg
der Titelverbindung; ESI-MS $[M+H^+]$ = 344.

20

(10-(2-Methoxy-2-oxoethyl)-4-oxo-4H-thieno[3,4-c][1]benzazepin-
5(10H)-yl)acetat (72)

Hydrierung von 71 analog zur Herstellung von 2 und anschließende

25 TFA-Spaltung ergab die Titelverbindung (45 mg); ESI-MS $[M+H^+]$
= 346.

((9E/Z)-9-(2-Methoxy-2-oxoethyliden)-5-oxo-9H-dithieno[3,4-b:3,4-
e]azepin-4(5H)-yl)acetat (73)

30

Die Synthese erfolgte analog zu Baustein 71 ausgehend von
9H-Dithieno[3,4-b:3,4-e]azepin-5,9(4H)-dion (Herstellung gemäß
EP 0209773). Es wurden 62 mg der Titelverbindung isoliert;
ESI-MS $[M+H^+]$ = 350.

35

(9-(2-Methoxy-2-oxoethyl)-5-oxo-9H-dithieno[3,4-b:3,4-e]azepin-
4(5H)-yl)acetat (74)

Hydrierung von 73 analog zur Herstellung von 2 und anschließende

40 TFA-Spaltung ergab die Titelverbindung (20 mg); ESI-MS $[M+H^+]$
= 352.

103

2-{{[11-(2-*tert*-Butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5*H*-di-benzo[b,e]azepin-5-yl]methyl}-1,3-thiazol-4-carbonsäure (75)

a) Alkylierung von 5 g (15,46 mmol) *tert*.Butyl-(6-oxo-6,11-dihydro-5*H*-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat (4) mit Bromacetone-nitril analog zu 1 ergab 5,5 g eines bräunlichen Öls (ESI-MS $[M+H^+]$ = 363,15), das direkt mit H_2S in Pyridin unter Zusatz von Triethylamin zum Thioamid umgesetzt wurde. Das nach der Aufarbeitung erhaltene Rohprodukt wurde mit n-Pentan verrührt (7 g).

5 b) Umsetzung des Thioamids (4 g; 10,1 mmol) mit Ethylbromopyruvat in 30 ml unter Zusatz von 0,83 g $KHCO_3$ führte zu Ethyl-2-{{[11-(2-*tert*-butoxy-2-hydroxypropyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5*H*-dibenzo[b,e]azepin-5-yl]methyl}-1,3-thiazol-4-carboxylat (4,1 g; ESI-MS $[M+H^+]$ = 493,15), von denen 3 g mit KOH in Dioxan/ H_2O verseift wurden (2 g; ESI-MS $[M+H^+]$ = 465,15).

10 c) Umsetzung des Thioamids (4 g; 10,1 mmol) mit Ethylbromopyruvat in 30 ml unter Zusatz von 0,83 g $KHCO_3$ führte zu Ethyl-2-{{[11-(2-*tert*-butoxy-2-hydroxypropyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5*H*-dibenzo[b,e]azepin-5-yl]methyl}-1,3-thiazol-4-carboxylat (4,1 g; ESI-MS $[M+H^+]$ = 493,15), von denen 3 g mit KOH in Dioxan/ H_2O verseift wurden (2 g; ESI-MS $[M+H^+]$ = 465,15).

Beispiele I.B

20

Synthesebeispiele für Verbindungen der Formel I (B-G-L):

Beispiel I.B.1

[6-Oxo-5-(2-oxo-2-{{[2-(2-pyridinylamino)ethyl]amino}ethyl}-6,11-dihydro-5*H*-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat (15)

a) 11-(2-Methoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5*H*-dibenzo[b,e]azepin-5-ylacetat 3 (0,45 g; 1,33 mmol) wurde in 25 ml CH_2Cl_2 gelöst und bei 0°C 1,1 eq. N'-(Dimethylamino-propyl)-N-ethylcarbodiimid (0,28 g) und 1,03 eq. N-Methylmorpholin (0,15 ml) zugegeben. Nach ca. 40 min. wurde N-(2-Pyridinyl)-1,2-ethandiamin (0,18 g; 1,33 mmol) zugesetzt und bei RT gerührt. Nach beendeter Reaktion (ca. 2 h) wurde mit CH_2Cl_2 verdünnt, mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet und eingeengt. Der verbliebene Rückstand (0,49 g) wurde durch Chromatographie an Kieselgel (CH_2Cl_2/CH_3OH 3 bis 10 %) gereinigt.

40

0,36 g; ESI-MS $[M+H^+]$ = 459.

45

b) Methyl-[6-oxo-5-(2-oxo-2-{{[2-(2-pyridinylamino)ethyl]amino}ethyl}-6,11-dihydro-5*H*-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat (0,34 g; 0,74 mmol) wurde in 15 ml CH_3OH und 2 ml H_2O gelöst, insgesamt 2 eq. KOH (0,085 g) zugesetzt und auf Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Reaktion wurde die Mischung eingedampft, das erhaltene Rohprodukt durch MPLC gereinigt (Kieselgel: Fa. Bischoff Prontoprep 60-2540-C18E, 32 μ m;

104

Fließmittel: $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O} + 0,1\%$ Essigsäure) und anschließend lyophilisiert.

0,11 g; ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+]$ = 445,1;

5

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz; DMSO-d6) Diastereomerengemisch: δ (ppm) 8,3 (m, 1H), 7,95 (m, 1H), 7,65-7,1 (m, 9H), 6,65-6,30 (m, 3H), 4,8-4,2 (m, 4H), 3,55-3,1 (m, 4H), 3,85 (1H).

10

Beispiel I.B.2

(6-Oxo-5-{2-oxo-2-[4-(2-pyridinyl)-1-piperazinyl]ethyl}-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat (16)

15 a) 11-(2-Methoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]-azepin-5-ylacetat 3 (1,2 g; 3,54 mmol) wurde in 25 ml CH_2Cl_2 gelöst, bei 0°C 1,1 eq. N'-(Dimethylamino-propyl)-N-ethyl-carbodiimid) (0,8 g) und 1,0 eq. DIPEA (Ethyldiisopropylamin) (0,45 g) und nach ca. 2 h (2-Pyridinyl)piperazine (0,57 g; 20 3,54 mmol) zugegeben. Anschließend wurde bei RT gerührt. Nach beendeter Reaktion (ca. 2 h) wurde mit CH_2Cl_2 verdünnt, mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet und eingeeengt. Der verbliebene Rückstand (2,03 g) wurde durch Chromatographie an Kieselgel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 2 bis 8 %) gereinigt.

25

0,57 g; ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+]$ = 485,25;

b) Methyl-(6-oxo-5-{2-oxo-2-[4-(2-pyridinyl)-1-piperazinyl]-ethyl}-6,11-dihydro-5H-dibenzo-[b,e]azepin-11-yl)acetat (0,485 g; 1,18 mmol) wurde in 30 ml Dioxan/ H_2O 5:1 gelöst, 1,5 eq. KOH (0,1 g) zugesetzt und auf Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Reaktion wurde die Mischung eingedampft, das erhaltene Rohprodukt durch MPLC gereinigt (Kieselgel: Fa. Bischoff Prontoprep 60-2540-C18E, 32 μm ; Fließmittel: $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O} + 0,1\%$ Essigsäure) und anschließend lyophilisiert.

0,21 g; ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+]$ = 471,15;

40 $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz; DMSO-d6) Diastereomerengemisch: δ (ppm) 12,2-11,8 (breit, 1H), 8,15 (m, 1H), 7,7-7,05 (m, 9H), 6,85 (m, 1H), 6,7 (m, 1H), 5,25-4,25 (4H), 3,75-3 (m, überlagert durch H_2O), 2,85 (m, 1H).

Beispiel I.B.3

{5-[2-({[6-(1H-Benzimidazol-2-yl)-3-pyridinyl]methyl}amino)-2-oxoethyl]-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl}acetat (17)

5

11-(2-Methoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]-azepin-5-yl]acetat 3 (0,56 g; 1,66 mmol) wurde in 15 ml CH₂Cl₂ gelöst und bei 0°C 1,2 eq. N'-(Dimethylamino-propyl)-N-ethylcarbodiimid) (0,37 g) und 4,4 eq. DIPEA (0,95 g) zugegeben. Nach ca.

10 50 Minuten wurde [6-(1H-Benzimidazol-2-yl)-3-pyridinyl]methanamin x 2TFA (6) (0,94 g; 1,66 mmol) - gelöst in 15 ml DMF - zugesetzt und bei RT gerührt. Nach beendeter Reaktion (ca. 2 h) wurde mit CH₂Cl₂ verdünnt, mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet und eingengt. Das erhaltene Rohprodukt (1,4 g) wurde ohne weitere Auf-
15 reinigung direkt umgesetzt.

ESI-MS [M+H⁺] = 546,25.

Methyl-({5-[2-({[6-(1H-benzimidazol-2-yl)-3-pyridinyl]methyl}-

20 amino)-2-oxoethyl]-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl}acetat (1,4 g) wurde in 30 ml Dioxan/H₂O 5:1 gelöst, 2,15 eq. KOH (0,2 g) zugesetzt und auf Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Reaktion (12 h) wurde die Mischung eingedampft, das erhaltene Rohprodukt durch MPLC gereinigt (Kieselgel: Fa. Bischoff
25 Prontoprep 60-2540-C18E, 32 µm; Fließmittel: CH₃CN/H₂O + 0,1 % Essigsäure) und anschließend lyophilisiert.

0,45 g; ESI-MS [M+H⁺] = 532,15

30 ¹H-NMR (200 MHz; DMSO-d6) Diastereomerengemisch: δ (ppm) 12,9 (s, 1H), 8,95 (m, 1H), 8,70 (m, 1H), 8,30 (m, 1H), 7,85 (m, 1H), 7,8-7,05 (m 12H), 4,85-4,25 (m, 4H), 3,75-3,0 (m, überlagert mit H₂O), 2,90 (m, 1H).

35 analog wurden hergestellt:

Beispiel I.B.4

{10-Oxo-11-[2-oxo-2-({4-[(2-pyridinylamino)methyl]benzyl}amino)-ethyl]-10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cyclohepten-5-yl}acetat (18)

40

Kupplung mit N-[4-(Aminomethyl)benzyl]-2-pyridinamin (12) und anschließende Verseifung des Methylesters ergaben 0,3 g;

ESI-MS [M+H⁺] = 521,25;

45 ¹H-NMR (200 MHz; DMSO-d6) Diastereomerengemisch: δ (ppm) 8,70 (m, 1H), 7,95 (m, 1H), 7,70-6,95 (m, 15H), 6,45 (m, 2H), 4,85-4,2 (m 8H), 2,8 (m 1H).

Beispiel I.B.5

[5-(2-{{2-(4,5-Dihydro-1H-imidazol-2-ylamino)ethyl}amino}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat (19)

5 Kupplung mit N¹-(4,5-Dihydro-1H-imidazol-2-yl)-1,2-ethandiamin und anschließende Verseifung des Methylesters ergaben 0,42 g;

ESI-MS [M+H⁺] = 436,1;

10 Beispiel I.B.6

2-{{5-{{[11-(Carboxymethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-yl]acetyl}amino}methyl}-2-pyridinyl}-4,5-dihydro-1H-imidazol-1-ium acetat (20)

15 Kupplung mit 2-[5-(Aminomethyl)-2-pyridinyl]-4,5-dihydro-1H-imidazol und anschließende Verseifung des Methylesters ergaben 0,3 g als Acetat;

ESI-MS [M+H⁺] = 502,15;

20

¹H-NMR (200 MHz; DMSO-d6) Diastereomerengemisch: δ (ppm) 9,15-8,80 (m, 2H), 8,65 (m, 1H), 8,1-7,05 (m 10H), 4,8-3,75 (m überlagert mit H₂O), 3,4 (m 2H), 2,80 (m, 2H), 1,85 (s, 3H).

25 Beispiel I.B.7

{6-Oxo-5-[2-oxo-2-{{[1-(2-pyridinyl)-4-piperidinyl]methyl}amino}-ethyl]-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl}acetat (21)

Kupplung mit [1-(2-Pyridinyl)-4-piperidinyl]methanamin und 30 anschließende Verseifung des Methylesters ergaben 0,4 g;

ESI-MS [M+H⁺] = 499,25;

¹H-NMR (200 MHz; DMSO-d6) Diastereomerengemisch: δ (ppm) 12,15

35 (breit), 8,2 (m 1H), 8,15 (m 1H), 7,75-7,05 (m, 9H), 6,85 (m 1H), 6,6 (m, 1H), 4,8-4,2 (m 4-5H), 3,65-2,7 (m überlagert mit H₂O), 1,70 (m 3H), 1,2 (m, 2H).

Beispiel I.B.8

40 2-{{[11-(Carboxymethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-yl]acetyl}amino}methyl]-1H-benzimidazol-1-ium acetat (22)

Kupplung mit 1H-Benzimidazol-2-ylmethanamin und anschließende 45 Verseifung des Methyl-esters ergaben 0,48 g als Acetat;

ESI-MS $[M+H^+]$ = 455,15;

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz; DMSO-d6) Diastereomerengemisch: δ (ppm) 12,1 breit, 8,95 (m 1H), 7,75-7,05 (m 12H), 4,85-4,30 (m, 6H), 2,85 5 (m 1H), 1,95 (s, 3H).

Beispiel I.B.9

2-[(11-(Carboxymethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-yl)acetyl]amino)methyl]-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-3-ium **10** acetat (23)

Kupplung mit 2-(Aminomethyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-3- und anschließende Verseifung des Methylesters ergaben 0,24 g als Acetat;

15

ESI-MS $[M+H^+]$ = 456,15;

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz; DMSO-d6) Diastereomerengemisch: δ (ppm) 9,8/9,25 (breit), 8,25 (m 1H), 7,95 (m 1H), 7,65-6,8 (m 8-9H), 4,75-4,40 20 (m 4H), 4,0-2,9 (m überlagert mit H_2O), 1,80 (s, 3H).

Beispiel I.B.10

[6-Oxo-5-(3-oxo-3-[(2-(2-pyridinylamino)ethyl]amino)propyl]-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat (24)

25

Kupplung von 3-[11-(2-tert-Butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-yl]propanoat (6), anschließend Spaltung des tert. Butylesters mit TFA und Aufreinigung durch MPLC ergaben 40 mg;

30

ESI-MS $[M+H^+]$ = 459,15;

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz; DMSO-d6) Diastereomerengemisch: δ (ppm) 8,15 (m 1H), 7,95 (m 1H), 7,70-7,15 (m, 11H), 6,65 (breit, 1H), 6,45 35 (m 2H), 4,70 (m 1H), 4,40 (m 2H), 4,25-2,6 (m, überlagert mit H_2O).

Beispiel I.B.11

(6-Oxo-5-(3-oxo-3-[4-(2-pyridinyl)-1-piperazinyl]propyl)-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat (25)

Analog zu Beispiel 10 wurden 85mg erhalten;

ESI-MS $[M+H^+]$ = 485,25;

45

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz; DMSO-d6) Diastereomerengemisch: δ (ppm) 8,15

108

(m, 1H), 7,5-7,05 (m 9H), 6,85 (m 1H), 6,70 (m 1H), 4,85-3,85 (m, 4H), 3,65-3,15 (m, überlagert mit H₂O), 3,05-2,7 (m 3H).

Beispiel I.B.12

5 {5-[3-({[4-(1H-Benzimidazol-2-yl)-2-thienyl]methyl}amino)-3-oxopropyl]-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl}-acetic acid (26)

Analog zu Beispiel 10 wurden 20mg erhalten;

10

ESI-MS [M+H⁺] = 551,15;

¹H-NMR (200 MHz; DMSO-d6) Diastereomerengemisch: δ (ppm) 12,2 (breit), 8,70 (m 1H), 8,10 (m, 1H), 7,80-6,95 (m, 13H), 4,70 (m 1H), 4,60-3,90 (m, 5H), 3,55-2,85 (m überlagert mit H₂O).

15

Beispiel I.B.14

2-{{[1-{{[11-(Carboxymethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo-[b,e]azepin-5-yl]acetyl}-4-piperidinyl]methyl}amino}pyridinium 20 acetat (28)

Kupplung mit N-(4-Piperidinylmethyl)-2-pyridinamin und anschließende Verseifung des Methylesters ergaben 65 mg;

25 ESI-MS [M+H⁺] = 499.25;

¹H-NMR (200 MHz; DMSO-d6) Diastereomerengemisch: δ (ppm) 8,05 (m, 1H), 7,80-7,15 (m, 9H), 6,70 (m, 1H), 6,55 (m, 2H), 5,35-4,80 (m 3H), 4,70-4,0 (m, 3H), 3,75-2,80 (m, überlagert mit H₂O), 2,05 (s, 3H), 2,80 (m, 3H), 1,25 (m 2H).

Beispiel I.B.15

[5-(2-{4-[(Benzylamino)carbonyl]-1-piperazinyl}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat (29)

35

a) 11-(2-Methoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]-azepin-5-yl]acetat 3 (2,5 g; 7,37 mmol) wurde in 40 ml CH₂Cl₂ gelöst und - wie vorstehend beschrieben - durch Zugabe von 1,2 eq. N'-(Dimethylamino-propyl)-N-ethylcarbodiimid)

40

(1,15 g) und 1,2 eq. DIPEA (1,15 g) "voraktiviert". Nach 1 h wurde Boc-Piperazin (1,37 g) zugesetzt und 1 h bei 0°C und dann bei RT nachgerührt. Zur Aufarbeitung wurde mit CH₂Cl₂ verdünnt, mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet und eingeengt. Das erhaltene Rohprodukt (3,2 g) wurde durch

45

Chromatographie an Kieselgel (CH₂Cl₂/CH₃OH 1 bis 3 % + 0,1 % Essigsäure) gereinigt.

1,7 g; ESI-MS [M+H⁺] = 508,2;

109

b) (5-{2-[4-(tert-Butoxycarbonyl)-1-piperazinyl]-2-oxoethyl}-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat (1,7 g) wurden in 20 ml CH_2Cl_2 gelöst und bei 0°C mit 10 ml TFA versetzt. Nach beendeter Reaktion wurde eingeengt und 2x mit 5 Toluol coevaporiert (1,75 g; ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+]$ = 408,15). Das TFA-Salz wurde dann in 30 ml Toluol/Dioxan 1:1 gelöst, mit 2 eq. DIPEA (0,4 g) und 1 eq. Benzylisocyanat (0,2 g) versetzt und auf Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Umsetzung wurde die Mischung eingeengt, in CH_2Cl_2 aufgenommen, mit 1n 10 HCl-Lsg. und dann ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet und eingedampft (0,81 g; ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+]$ = 541,25). Zur Verseifung wurde in 25 ml Dioxan/ H_2O 2,1 g gelöst, 1,5 eq. KOH (0,13 g) zugegeben und auf Rückfluß erhitzt. Anschließend wurde die 15 Mischung aufkonzentriert, mit 2n HCl angesäuert und 2x mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden dann mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet, erneut eingeengt und der erhaltene Rückstand mit Methyl-tert.butylether verrührt.

20 0,36 g; ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+]$ = 527,15;

25 $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz; DMSO-d6) Diastereomerengemisch: δ (ppm) 7,7-7,1 (m, 14H), 5,25-4,1 (4H), 3,7-3,1 (m, überlagert mit H_2O), 2,95 (m, 1H).

25 Beispiel I.B.16

{5-[2-({[5-(1H-Benzimidazol-2-yl)-2-thienyl]methyl}amino)-2-oxoethyl]-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl}acetat (30)

a) 11-(2-Methoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-ylacetat 3 (4 g; 11,8 mmol) wurde in 30 ml CH_2Cl_2 gelöst und - wie vorstehend beschrieben - durch Zugabe von 1,15 eq. N'-(Dimethylamino-propyl)-N-ethylcarbodiimid) (2,6 g) und 1,6 eq. DIPEA (2,5 g) "voraktiviert". Nach 1 h wurde 5-(Aminomethyl)-3-thiophencarbonitril (1,92 g) - gelöst in 35 ml DMF - und erneut 1 ml DIPEA zugesetzt, und 1 h bei 0°C und dann bei RT nachgerührt. Die übliche Aufarbeitung er gab 6,6 g gelbes Öl, das durch Chromatographie an Kieselgel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 1 bis 3 %) gereinigt wurde.

40 4,1 g; ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+]$ = 460,15;

b) Methyl-[10-(2-[(5-cyano-2-thienyl)methyl]amino)-2-oxoethyl]-11-oxo-10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cyclohepten-5-ylacetat (0,85 g; 1,85 mmol) wurde in 15 ml Pyridin gelöst, bei 0°C 1,76 g Triethylamin zugesetzt und 90 Minuten lang H_2S eingeleitet. Nach 1 h bei RT wurde die Reaktionsmischung eingeengt, 2x mit CH_2Cl_2 versetzt und erneut eingedampft (0,9 g gelber Schaum).

110

Das Thioamid wurde anschließend in 20 ml CH_2Cl_2 gelöst, 5 eq. CH_3I (1,3 g) zugesetzt und über Nacht bei RT gerührt. Die Mischung wurde eingedampft, der Rückstand in 25 ml CH_3OH aufgenommen, mit 1,2-Phenyldiamin (0,197 g) versetzt und 3 h bei RT gerührt. Einengen der Mischung ergab 1,35 g Rohprodukt, das durch Chromatographie an Kieselgel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$) gereinigt wurde 0,46 g; ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+]$ = 551,15.

10 Die Verseifung des Methylester erfolgte analog den schon beschriebenen Beispielen in 20 ml Dioxan/ H_2O 3:1 mit 80 mg KOH bei RT. Aufarbeitung und Reinigung des Rohprodukts durch MPLC (Kieselgel: Fa. Bischoff Prontoprep 60-2540-C18E, 32 μm ; Fließmittel: $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O} + 0,1\%$ Essigsäure) ergaben 0,22 g des 15 gewünschten Produktes.

ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+]$ = 537,15;

1H-NMR (200 MHz; DMSO-d6) Diastereomerengemisch: δ (ppm) 8,85 (m, 1H), 7,75-7,2 (m, 14H), 4,85-4,3 (m, 6H), 3,5-3,1 (m, über- 20 lagert mit H_2O), 2,95 (m, 1H).

Beispiel I.B.17

(5-[2-[(4-[Amino(imino)methyl]-2-thienyl)methyl]amino]-2-oxo- 25 ethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat (31)

Methyl-[5-(2-[(4-cyano-2-thienyl)methyl]amino)-2-oxoethyl]- 30 6-oxo-6,11-dihydro-5H-di-benzo-[b,e]azepin-11-yl]acetat und das entsprechende Thioamid wurden analog zu Beispiel 16 dargestellt. Methyl-[5-[2-[(4-(aminocarbothioyl)-2-thienyl)methyl]amino]-2- 35 oxoethyl]-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat (2,3 g; 4,66 mmol) in 30 ml CH_2Cl_2 wurde mit 5 eq. CH_3I (3,3 g) über Nacht bei RT gerührt. Die Mischung wurde eingedampft, der Rückstand in 20 ml CH_3OH aufgenommen, mit 0,27 g Ammoniumacetat versetzt und erneut über Nacht gerührt. Einengen der Mischung 40 ergab 1,44 g des Rohprodukts (ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+]$ = 477,15).

Der Methylester wurde in 10 ml Dioxan aufgenommen und nach Zugabe von 15 ml 2n HCl 6 h auf Rückfluß erhitzt. Anschließend wurde die Mischung eingedampft und der erhaltene Rückstand durch MPLC (Kieselgel: Fa. Bischoff Prontoprep 60-2540-C18E, 32 μm ; Fließ- 45 mittel: $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O} + 0,1\%$ Essigsäure) gereinigt. 0,12 g; ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+]$ = 463,05;

1H-NMR (200 MHz; DMSO-d6) Diastereomerengemisch: δ (ppm) 10,5-9,1 (breit), 9,05/8,8 (m, 1H), 8,35 (m, 1H), 7,7-7,0 (m, 10H), 45 4,95-4,15 (m, 6H), 3,6-2,90 (m, überlagert mit H_2O), 2,70 (m, 1H).

Beispiel I.B.18

{5-[2-({[4-(1H-Benzimidazol-2-yl)-2-thienyl]methyl}amino)-2-oxoethyl]-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl}acetat (32)

5 Methyl-[5-(2-[(4-cyano-2-thienyl)methyl]amino)-2-oxoethyl]-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo-[b,e]azepin-11-yl]acetat (0,5 g; 1,09 mmol) in 30 ml CH₃OH wurde mit 0,2 ml Natriummethylat-Lsg. (30% in CH₃OH) 7h auf Rückfluß erhitzt. Anschließend wurden 0,2 g 1,2-Phenylendiaminhydrochlorid zugesetzt und erneut für ca.

10 8 h refluxiert. Nach beendeter Umsetzung wurde die Mischung eingengt und der verbliebene Rückstand durch Chromatographie an Kieselgel (CH₂Cl₂/CH₃OH 1 bis 3 %) gereinigt. 0,13 g; ESI-MS [M+H⁺] = 551,15;

15 Verseifung in 15 ml Dioxan/H₂O 3:1 mit 1,5 eq. KOH (0,02 g) und Reinigung des Rohprodukts durch MPLC (Kieselgel: Fa. Bischoff Prontoprep 60-2540-C18E, 32 µm; Fließmittel: CH₃CN/H₂O + 0,1 % Essigsäure).

0,03 g; ESI-MS [M+H⁺] = 537,15;

20

¹H-NMR (200 MHz; DMSO-d6) Diastereomerengemisch: δ (ppm) 9,0/8,8 (m, 1H), 8,15 (m, 1H), 7,75-7,0 (m, 14H), 4,85-4,20 (m, 6H), 3,75-2,8 (m, überlagert mit H₂O).

25 Beispiel I.B.19

{5-[2-({[4-(3H-Imidazo[4,5-b]pyridin-2-yl)-2-thienyl]methyl}amino)-2-oxoethyl]-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl}acetat (33)

30 Analog durch Umsetzung mit 2,3-Pyridinamin.

32 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 538,4;

¹H-NMR (200 MHz; DMSO-d6) Diastereomerengemisch: δ (ppm) 8,95-8,8

35 (m, 1H), 8,0 (m, 1H), 7,8-7,05 (m, 13H), 4,75-4,1 (m, 6H), 2,95 (m, 1H).

Beispiel I.B.20

[5-(2-{{4-(1H-Benzimidazol-2-yl)benzyl}amino}-2-oxoethyl)-6-oxo-40 6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat-hydrochlorid (34)

Analog durch Umsetzung mit [4-(1H-Benzimidazol-2-yl)benzylmethylamin aus Baustein 14.

40 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 531,15

112

¹H-NMR (400 MHz; DMSO-d6) Diastereomerengemisch: δ (ppm) 8,95-8,8 (m, 1H), 8,0 (m, 1H), 7,8-7,05 (m, 13H), 4,75-4,1 (m, 6H), 2,95 (m, 1H).

5 Beispiel I.B.21

{5-[2-({[4-(1H-benzimidazol-2-yl)-1,3-thiazol-2-yl]methyl}amino)-2-oxoethyl]-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl}acetat (35)

10 Analog durch Umsetzung mit [4-(1H-Benzimidazol-2-yl)-1,3-thiazol-2-yl]methylamin.

430 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 538,15;

¹H-NMR (360 MHz; DMSO-d6) Diastereomerengemisch: δ (ppm) 9,4/9,3

15 (m, 1H), 8,9 (m, 1H), 7,8-7,15 (m, 13H), 4,95-4,35 (m, 5H), 3,2 (m, überlagert mit H₂O), 2,95 (m, 1H).

Beispiel I.B.22

{5-(2-(4-(1H-Benzimidazol-2-yl)anilino)-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl}acetat (36)

Analog durch Umsetzung mit 4-(1H-Benzimidazol-2-yl)anilin.

100 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 517,15;

25 ¹H-NMR (360 MHz; DMSO-d6) Diastereomerengemisch: δ (ppm) 12,75 (breit), 10,6 (m 1H), 8,2 (m, 2H), 7,9-7,1 (m, 14H), 4,8-4,75 (m, 2H), 4,4 (m 1H), 3,75-3,0 (m, überlagert mit H₂O), 2,8 (m, 1H).

30 Beispiele I.B.23

Methyl-[10-(2-{{4-(1H-benzimidazol-2-yl)benzyl}amino}-2-oxoethyl)-11-oxo-10,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e][1,4]diazepin-5-yl]acetat

35 [5-(2-Methoxy-2-oxoethyl)-11-oxo-5,11-dihydro-10H-dibenzo[b,e][1,4]diazepin-10-yl]essigsäure 37c (0,8 g; 2,35 mmol) wurde in 15 ml DMF gelöst, bei 0°C mit 1,05 g HATU und 0,3 g DIPEA zugesetzt und 30 min. bei RT nachgerührt. Nach Zugabe von [4-(1H-Benzimidazol-2-yl)phenyl]methanaminbistrifluoracetat aus 40 Baustein 14 (1,06 g; 2,35 mmol) und 0,6 g DIPEA wurde 2 h lang bei 5°C gerührt. Die Mischung wurde mit CH₂Cl₂ verdünnt, mit H₂O gewaschen, getrocknet und eingeengt. Chromatographie an Kieselgel (CH₂Cl₂/CH₃OH 1 → 8 %) ergab 1,3 g eines leicht bräunlichen Öls; ESI-MS [M + H⁺] = 546.

113

¹H-NMR (400 MHz; DMSO-d₆): δ (ppm) 8.45 (t, 1H), 8.15 (d, 2H), 7.05-7.7 (m, 16H), 4.75 und 4.65 (je d, 2H), 4.45-4.55 (m, 2H), 3.55 (s, 3H).

5 Beispiele I.B.24

[10-(2-{{4-(1H-Benzimidazol-2-yl)benzyl}amino}-2-oxoethyl)-11-oxo-10,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e][1,4]diazepin-5-yl]essigsäure (Acetat)

10 Methyl[10-(2-{{4-(1H-benzimidazol-2-yl)benzyl}amino}-2-oxoethyl)-11-oxo-10,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e][1,4]diazepin-5-yl]acetat (1 g; 1,56 mmol) und 0,15 g KOH wurden in 30 ml Dioxan/H₂O 2:1 3 h lang auf Rückfluß erhitzt. Einengen der Mischung und Chromatographie des Rohprodukts mittels MPLC (Kieselgel: Fa. Bischoff 15 Prontoprep 60-2540-C₁₈E, 32 μm; Fließmittel: CH₃CN/H₂O + 0,1 % Essigsäure) ergaben 0,22 g des gewünschten Produktes als Acetat; ESI-MS [M+H⁺] = 532.

¹H-NMR (400 MHz; DMSO-d₆): δ (ppm) 12.75 (s br, 1H), 8.40 (t, 1H),

20 8.15 (d, 2H), 7.15-7.7 (m, 16H), 4.75 und 4.60 (je d, 2H), 4.45-4.55 (m, 2H), 2.1 (s, 3H).

Beispiele I.B.25

Methyl-[10-(2-{{(2-{{(benzylamino)carbonyl}amino}-1,3-thiazol-

25 4-yl)methyl}amino}-2-oxoethyl)-11-oxo-10,11-dihydro-5H-dibenzo-[b,e][1,4]diazepin-5-yl]acetat

Die Herstellung erfolgte analog zu I.B.23 durch Umsetzung von [5-(2-Methoxy-2-oxoethyl)-11-oxo-5,11-dihydro-10H-dibenzo[b,e]-

30 [1,4]diazepin-10-yl]essigsäure 37c mit N-[4-(Aminomethyl)1,3-thiazol-2-yl]-N'-benzylharnstoff (Hydrochlorid) (38). Chromatographie an Kieselgel (CH₂Cl₂/CH₃OH 2 → 10 %) ergab 0,45 g; ESI-MS [M + H⁺] = 585,25.

35 Beispiele I.B.26

[10-(2-{{(2-{{(Benzylamino)carbonyl}amino}-1,3-thiazol-4-yl)-methyl}amino}-2-oxoethyl)-11-oxo-10,11-dihydro-5H-dibenzo-[b,e][1,4]diazepin-5-yl]acetat

40 Hydrolyse des Methylester analog zu zu I.B.24 und Reinigung des Rohprodukts mittels MPLC ergab 0,11 g; ESI-MS [M + H⁺] = 571,25.

Beispiele I.B.27

[10-(2-{{(2-{{(Amino(imino)methyl}amino}-1,3-thiazol-5-yl)methyl}-

45 amino}-2-oxoethyl)-11-oxo-10,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e][1,4]-diazepin-5-yl]acetat

114

Umsetzung analog I.B.23 mit {[4-(Aminomethyl)-1,3-thiazol-2-yl]-guanidin (Bishydrochlorid) (39) ergab 0,09 g; ESI-MS [M + H⁺] = 535,15.

5 Beispiele I.B.28

[5-(2-{{3-(1H-Imidazol-2-ylamino)-3-oxopropyl]amino}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

a) 440 mg (1,3 mmol) [11-(2-Methoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-yl]acetat (3) wurden in 15 ml DMF gelöst, 0,3 ml DIPEA und 543 mg HATU zugegeben. Nach 30 min bei Raumtemp. wird 3-Amino-N-(1H-imidazol-2-yl)-propanamid 42 (200 mg, 1,3 mmol) in DMF gelöst langsam zugetropft und der Ansatz 6 h gerührt. Es wurde in Ethylacetat und Wasser aufgenommen und 3x mit H₂O und 3x mit NaHCO₃-Lsg. geschüttelt. Die organische Phase wurde getrocknet, eingeengt und der verbliebene Rückstand in CH₂Cl₂/CH₃OH 19:1 gelöst und mit Diethylether ausgefällt. Der Niederschlag wurde abgesaugt, gewaschen und getrocknet (220 mg). ESI-MS [M+H⁺] = 476.

b) I.B.28a wurde in 5 ml THF gelöst und eine Lösung von 45 mg LiOH (1,89 mmol) in wäßriger Lösung hinzugegeben. Es wurde bei RT bis zur vollständigen Umsetzung gerührt, danach mit 10 % Zitronensäure angesäuert und eingeengt. Dabei fiel ein weißer Niederschlag aus, der abgesaugt, 4x mit H₂O gewaschen und im Vakuum getrocknet wurde (120 mg); ESI-MS [M+H⁺] = 462.

Beispiele I.B.29

30 (5-{2-[4-({{(Benzylamino)carbonyl]amino}methyl)piperidin-1-yl]-2-oxoethyl}-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat

a) Kupplung von [11-(2-Methoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-yl]acetat (3) mit N-Benzyl-N'-(piperidin-4-ylmethyl)carbamat (THL 31, 47, 1990, 6903) analog zu Beispiel I.B.1 und anschließende Reinigung ergab 1,65 g, die dann unter Standardbedingungen in 20 ml CH₃OH und Zusatz von 1,35 ml 2n HCl mit 5 % Pd auf Aktivkohle hydriert wurden (1,04 g).

b) Umsetzung des freien Amins (0,21 g) mit 0,06 g Benzylisocyanat und 0,046 g N-Methylmorpholin in 15 ml CH₂Cl₂ unter Rückfluß, Waschen der Mischung mit wäßriger 1n HCl- und gesättigter NaCl-Lösung und Einengen ergab 0,17 g eines gelblichen Öls; ESI-MS [M+H⁺] = 569,25.

115

c) Verseifung des Methylesters unter Standardbedingungen analog I.B.1 und übliche Aufarbeitung ergab 0,16 g als weißen festen Schaum; ESI-MS $[M+H^+]$ = 555,25.

5 analog zu Beispiel I.B.10 wurden hergestellt:

Beispiel I.B.30

[6-Oxo-5-(3-oxo-3-{{(1-pyridin-2-yl)piperidin-4-yl)methyl}-amino}propyl)-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

10

Kupplung von 3-[11-(2-tert-Butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-yl]propanoate 6 mit [1-(2-Pyridinyl)-4-piperidinyl]methanamin, anschließend Spaltung des tert. Butylesters mit TFA und Aufreinigung durch MPLC ergaben 106 mg;

15 ESI-MS $[M+H^+]$ = 513,25.

Beispiel I.B.31

(5-{3-{{(1-[Benzylamino]carbonyl)piperidin-4-yl)methyl}-amino}-3-oxopropyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

20

Kupplung mit 4-(Aminomethyl)-N-benzylpiperidin-1-carboxamid (43), Spaltung des tert. Butylesters mit TFA und Aufreinigung durch MPLC ergaben 0,46 g; ESI-MS $[M+H^+]$ = 569,25.

25

Beispiel I.B.32

{5-[3-{{[5-(1H-Benzimidazol-2-yl)thien-2-yl)methyl}amino}-3-oxopropyl]-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

30

Kupplung mit [5-(1H-Benzimidazol-2-yl)thien-2-yl]methanamin (45), Spaltung des tert. Butylesters mit TFA und Aufreinigung durch MPLC ergaben 70 mg; ESI-MS $[M+H^+]$ = 551,15.

Beispiel I.B.33

35 {5-[3-{{[4-(1H-Benzimidazol-2-yl)thien-2-yl)methyl}amino}-3-oxopropyl]-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

Kupplung mit [4-(1H-Benzimidazol-2-yl)thien-2-yl]methanamin (44), Spaltung des tert. Butylesters mit TFA und Aufreinigung durch MPLC

40 ergaben 20 mg; ESI-MS $[M+H^+]$ = 551,15.

116

analog zu Beispiel I.B.1 wurden hergestellt:

Beispiel I.B.34

5 $5\text{-}\{2\text{-}\{[(1\text{-}\{(\text{Benzylamino})\text{carbonyl}\}\text{piperidin-4-yl})\text{methyl}]\text{amino}\}\text{-}$
5 $2\text{-oxoethyl}\}-6\text{-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl}\text{acetat}$

Durch Kupplung von 11-(2-Methoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-di-
 hydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-ylacetat (3) mit 4-(Aminomethyl)-
10 $N\text{-benzylpiperidin-1-carboxamid}$ (43), Esterspaltung und anschlie-
 ßende Aufreinigung wurden 0,42 g als fester Schaum erhalten;
10 ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+]$ = 555,25.

Beispiel I.B.35

15 $5\text{-}\{2\text{-}\{[(4\text{-}\{(\text{Benzylamino})\text{carbonyl}\}\text{amino})\text{methyl}]\text{benzyl}\}\text{amino}\}\text{-}$
15 $2\text{-oxoethyl}\}-6\text{-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl}\text{acetat}$

Durch Kupplung von 3 mit $N\text{-}[4\text{-}(\text{Aminomethyl})\text{benzyl}]\text{-}N'\text{-benzyharn-}$
 stoff (40), Esterspaltung und anschließende Aufreinigung wurden
 0,62 g als fester Schaum erhalten.

20

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz) Diastereomerengemisch: δ (ppm) 7.70-7.10
 (m, 13H), 6.65-6.5 (m, 2H), 4.75-4.65 (m, 2H), 4.5-4.2 (m, 5H),
 3.55, 3.25 (je dd, 1H), 2.0-1.85 (m, 2H).

Beispiel I.B.36

$(6\text{-Oxo-5}\text{-}\{2\text{-oxo-2-}\{4\text{-}(\text{pyridin-2-ylamino})\text{piperidin-1-yl}\}\text{ethyl}\}\text{-}$
6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-ylacetat

Durch Kupplung von 3 mit 2-(Piperidin-4-ylamino)pyridin (46),
30 Esterspaltung und anschließende Aufreinigung wurden 0,3 g als
 fester Schaum erhalten; ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+]$ = 485,15.

Beispiel I.B.37

$[5\text{-}\{2\text{-}\{4\text{-}(\text{1H-Benzimidazol-2-ylamino})\text{benzyl}\}\text{amino}\}\text{-}2\text{-oxoethyl}\}\text{-}$
35 $6\text{-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl}\text{acetat}$

Durch Kupplung von [11-(2-tert-Butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-di-
 hydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-ylacetat (66) mit $N\text{-}[4\text{-}(\text{Amino-}$
40 $\text{methyl})\text{phenyl}]\text{-}1\text{H-benzimidazol-2-amin}$ (Hydrochlorid) (47) unter
 Verwendung von HATU als Kupplungsreagens, Esterspaltung mit
 TFA und Reinigung des Rohprodukts über MPLC ergaben 0,4 g;
 ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+]$ = 546,25.

Beispiel I.B.38

Methyl-[5-(2-{{4-(1H-benzimidazol-2-ylamino)benzyl}amino}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

5 [5-(2-{{4-(1H-Benzimidazol-2-ylamino)benzyl}amino}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat I.B.37
(0,9 g; 0,16 mmol) wurden in 5 ml CH₃OH suspendiert, 0,02 ml SOCl₂ zugetropft und 48 h bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde das Reaktionsgemisch eingedampft und mit n-Pentan verrührt (40 mg);
10 ESI-MS [M+H⁺] = 560,25.

Beispiel I.B.39

[5-(2-{{5-(1H-Benzimidazol-2-ylamino)pentyl}amino}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

15 Kupplung von 3 mit N¹-(1H-Benzimidazol-2-yl)pentan-1,5-diamin (Hydrochlorid) (48) unter Verwendung von HATU als Kupplungsreagens, Spaltung des Methylesters analog zu Beispiel I.B.1 und Filtration des erhaltenen Rohprodukts über eine Chromabond-
20 C₁₈-Kartusche ergab 0,24 g; ESI-MS [M+H⁺] = 525,6.

Beispiel I.B.40

[5-(2-{{4-(1H-Benzimidazol-2-ylamino)butyl}amino}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

25 Kupplung von [11-(2-tert-Butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-yl]acetat (66) mit N¹-(1H-Benzimidazol-2-yl)butan-1,4-diamin (Trifluoracetat) (49) unter Verwendung von HATU als Kupplungsreagens, Spaltung des tert.Butylesters und
30 Reinigung des erhaltenen Rohprodukts über RP-MPLC ergab 94 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 512,25.

Beispiel I.B.41

(5-{{2-[(3-{{(Benzylamino)carbonyl}amino}benzyl)amino}-2-oxo-

35 ethyl}-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

Kupplung von [11-(2-tert-Butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-yl]acetat (66) mit (3-{{(Benzylamino)-carbonyl}amino}phenyl)methanamin (Hydrochlorid) (41), TFA-

40 Spaltung und Verrühren des erhaltenen Rohprodukts mit Methyl-tert.Butylether/CH₃OH 19:1 ergab 0,61 g leicht bräunliche Festkörper; ESI-MS [M+H⁺] = 563,25.

118

Beispiel I.B.42

[5-(2-{4-[(1H-Benzimidazol-2-ylamino)methyl]piperidin-1-yl}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

5 Kupplung von [11-(2-tert-Butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-yl]acetat (66) mit N-(Piperidin-4-yl-methyl)-1H-benzimidazol-2-amin (Trifluoracetat) (50), TFA-Spaltung und Chromatographie mittels RP-MPLC ergaben 60 mg; ESI-MS $[M+H^+]$ = 538,25.

10

Beispiel I.B.43

{6-Oxo-5-[2-oxo-2-({[2-(pyridin-2-ylamino)-1,3-thiazol-4-yl]-methyl}amino)ethyl]-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl}-acetat

15

Kupplung von [11-(2-tert-Butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-yl]acetat (66) mit N-[4-(Aminomethyl)-1,3-thiazol-2-yl]pyridin-2-amin (Bishydrochlorid) (51), TFA-Spaltung und Chromatographie mittels RP-MPLC ergaben 65 mg;

20 ESI-MS $[M+H^+]$ = 514,15.

Beispiel I.B.44

{6-Oxo-5-[2-oxo-2-({[2-(pyridin-2-ylamino)-1,3-thiazol-5-yl]-methyl}amino)ethyl]-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl}-

25 acetat

Kupplung von [11-(2-tert-Butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-yl]acetat (66) mit N-[5-(Amino-methyl)-1,3-thiazol-2-yl]pyridin-2-amin (Bishydrochlorid) (52),

30 TFA-Spaltung und Chromatographie mittels RP-MPLC ergaben 170 mg; ESI-MS $[M+H^+]$ = 514,15.

Beispiel I.B.45

[5-(2-{{[2-([Amino(imino)methyl]amino)-1,3-thiazol-4-yl]methyl}-amino}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat (Trifluoracetat)

Kupplung von [11-(2-tert-Butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-yl]acetat (66) mit {[4-(Amino-methyl)-1,3-thiazol-2-yl]guanidin (Bishydrochlorid) (39), TFA-Spaltung und Chromatographie mittels RP-MPLC ergaben 25 mg; ESI-MS $[M+H^+]$ = 479,15.

Beispiel I.B.46

[5-(2-{{(2-((Amino(imino)methyl)amino)-1,3-thiazol-5-yl)-methyl}amino}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]-azepin-11-yl]acetat

5

Kupplung von [11-(2-tert-Butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-yl]acetat (66) mit N-[5-(Amino-methyl)-1,3-thiazol-2-yl]guanidin (Dihydrochlorid) (53) und TFA-Spaltung ergaben 70 mg; ESI-MS $[M+H^+]$ = 479,15.

10

Beispiel I.B.47

{5-[2-({2-[4-(1H-Benzimidazol-2-yl)phenyl]ethyl}amino)-2-oxoethyl]-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

15 Kupplung von [11-(2-tert-Butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-yl]acetat (66) mit 2-[4-(1H-Benzimidazol-2-yl)phenyl]ethanamin aus Baustein 54 und TFA-Spaltung ergaben 35 mg; ESI-MS $[M+H^+]$ = 545,25.

20 Beispiel I.B.48

(6-Oxo-5-(2-oxo-2-[(4-[(pyridin-2-ylamino)methyl]thien-2-yl)-methyl]amino)ethyl)-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

25 Kupplung von [11-(2-tert-Butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-yl]acetat (66) mit N-[5-(Amino-methyl)thien-3-yl]pyridin-2-amin (Trifluoracetat) (55) und TFA-Spaltung ergaben 170 mg; ESI-MS $[M+H^+]$ = 527,25.

30 Beispiel I.B.49

[5-(2-{Methyl[2-(pyridin-2-ylamino)ethyl]amino}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

35 Kupplung von [11-(2-tert-Butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-yl]acetat (66) mit N¹-Methyl-N²-pyridin-2-ylethan-1,2-diamin (Acetat) (56), TFA-Spaltung und RP-MPLC ergaben 130 mg; ESI-MS $[M+H^+]$ = 459,25.

Beispiel I.B.50

40 [6-Oxo-5-(2-oxo-2-[(4-(2-pyridinylamino)benzyl]amino)ethyl]-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

Kupplung von 3 mit N-[4-(Aminomethyl)phenyl]-2-pyridinamin (57), Spaltung des Methylesters analog zu Beispiel I.B.1 und Filtration 45 des erhaltenen Rohprodukts über eine Chromabond-C₁₈-Kartusche ergab 3 mg; ESI-MS $[M+K^+]$ = 545,3, $[M+H^+]$ = 507,2, 326,0, 254,1.

120

Beispiel I.B.51

Methyl-(5-{2-[(4-[(benzylamino)carbonyl]amino)benzyl]amino}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat

5 Kupplung von 3 mit *N*-[4-(Aminomethyl)phenyl]-*N'*-benzylharnstoff (Trifluoracetat) (58) und Reinigung des Rohprodukts durch Chromatographie an Kieselgel ergab 550 mg; ESI-MS $[M+K^+] = 615,2$, $[M+H^+] = 577,35$.

10 Beispiel I.B.52

(5-{2-[(4-[(Benzylamino)carbonyl]amino)benzyl]amino}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat

Verseifung des Methylesters aus I.B.51 analog zu I.B.1 und

15 Reinigung des Rohprodukts mittels RP-MPLC ergab 174 mg; ESI-MS $[M+K^+] = 601,25$, $[M+H^+] = 563,35$.

Beispiel I.B.53

{4-[(11-(Carboxymethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]-20 azepin-5-yl)acetyl]amino}methyl]anilino}(imino)methanamin (Trifluoroacetat)

Kupplung von [11-(2-*tert*-Butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-yl]acetat (66) mit [4-(Amino-25 methyl)phenyl]guanidin (Bishydrochlorid) (59), TFA-Spaltung und Reinigung des Rohprodukts über RP-MPLC ergaben 7,8 mg; ESI-MS $[M+K^+] = 510,1$, $[M+H^+] = 472,15$.

Beispiel I.B.54

30 [5-(2-[(4-(5-Chloro-1*H*-benzimidazol-2-yl)benzyl]amino)-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

Kupplung von 3 mit [4-(5-Chloro-1*H*-benzimidazol-2-yl)phenyl]-methanamin (Trifluoroacetat) (60) und Spaltung des Methylesters 35 analog zu Beispiel I.B.1 ergab 25 mg; ESI-MS $[M+H^+] = 565,25$.

Beispiel I.B.55

40 [5-(2-[(4-(5,6-Dimethyl-1*H*-benzimidazol-2-yl)benzyl]amino)-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

Kupplung von 3 mit [4-(5,6-Dimethyl-1*H*-benzimidazol-2-yl)phenyl]-methanamin (Trifluoroacetat) (61) und Spaltung des Methylesters analog zu Beispiel I.B.1 ergab 100 mg; ESI-MS $[M+H^+] = 559,25$.

Beispiel I.B.56

[6-Oxo-5-(2-oxo-2-{{3-(2-pyridinylamino)propyl}amino}ethyl)-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

5 Kupplung von 3 mit *N*¹-(2-Pyridinyl)-1,3-propandiamin (68) und Spaltung des Methylesters analog zu Beispiel I.B.1 ergab 8 mg; ESI-MS [M+H⁺] : 459,25.

Beispiel I.B.57

10 Methyl-[6-oxo-5-(2-oxo-2-{4-[2-(2-pyridinylamino)ethyl]-1-piperidinyl}ethyl)-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

Kupplung von 3 mit *N*-[2-(4-Piperidinyl)ethyl]-2-pyridinamin

15 (Trifluoracetat) (62) ergab 140 mg; ESI-MS [M+H⁺] : 527,25.

Beispiel I.B.58

[6-Oxo-5-(2-oxo-2-{4-[2-(2-pyridinylamino)ethyl]-1-piperidinyl}-ethyl)-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

20

Verseifung des Methylesters aus Beispiel I.B.57 mit LiOH in Ethanol/H₂O ergab 90 mg; ESI-MS [M+K⁺] = 551,2, [M+H⁺] : 513,25.

Beispiel I.B.59

25 Methyl-[6-oxo-5-(2-oxo-2-{3-[2-(2-pyridinylamino)ethyl]-1-pyrrolidinyl}ethyl)-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

Kupplung von 3 mit *N*-[2-(3-Pyrrolidinyl)ethyl]-2-pyridinamin

30 (Trifluoracetat) (63) ergab 150 mg; ESI-MS [M+K⁺] = 551,2, [M+H⁺] : 513.25.

Beispiel I.B.60

[6-Oxo-5-(2-oxo-2-{3-[2-(2-pyridinylamino)ethyl]-1-pyrrolidinyl}-ethyl)-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

Verseifung des Methylesters aus Beispiel I.B.59 ergab 150 mg; ESI-MS [M+K⁺] = 537,2, [M+H⁺] : 499,25.

40 Beispiel I.B.61

{6-Oxo-5-[2-oxo-2-({4-[(3-phenylpropanoyl)amino]benzyl}amino)-ethyl]-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl}acetat

Kupplung von 3 mit {4-[(3-Phenylpropanoyl)amino]phenyl}methanamin

45 (Hydrochlorid) (64) und Spaltung des Methylesters analog zu Beispiel I.B.1 ergab 100 mg; ESI-MS [M+K⁺] = 600,2, [M+H⁺] = 562,2.

122

Beispiel I.B.62

(5-{2-[(4-{[(Benzyl)amino]benzyl}amino]benzyl}amino]-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat

5 Kupplung von [11-(2-tert-Butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-yl]acetat (66) mit (4-{[(Benzyl)amino]benzyl}amino)-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat (65) und TFA-Spaltung ergaben 72 mg; ESI-MS $[M+K^+]$ = 602,2, $[M+H^+]$: 564,2, 308,0, 102,2.

10

Beispiel I.B.63

(5-{2-[(5-[Amino(imino)methyl]-2-thienyl)methyl]amino}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat (Acetat)

15

a) Kupplung von 3 mit 5-(Aminomethyl)thiophen-2-carbonitril ergab 1,35 mg eines gelblichen Öls (ESI-MS $[M+H^+]$: 460,15). 1,25 g dieses Amids in 15 ml Ethanol wurden mit 3 eq. DIPEA und 2,5 eq. Hydroxylammoniumchlorid versetzt und erst bei RT, dann 7 h bei 70°C gerührt. Nach erneuter Zugabe von je 1 eq. DIPEA und Hydroxylammoniumchlorid wurde 4 h lang bei 50°C gerührt. Die Reaktionsmischung wurde dann eingeengt, mit Methyl-tert.butylether verdünnt und mit H₂O gewaschen. Der hierbei gebildete Niederschlag wurde abgesaugt, in CH₂Cl₂ aufgenommen, erneut mit H₂O gewaschen und eingedampft. Verrühren des verbliebenen Rückstands mit Ethanol/Petrolether ergab 1 g eines weißen amorphen Feststoffs.

b) Methyl (5-{2-[(5-[hydroxyamino(imino)methyl]-3-thienyl)methyl]amino}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat aus I.B.63a wurde in 10 ml Eisessig vorgelegt, 0,69 g Zn-Staub zugesetzt und über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung über Celite filtriert und zur Trockene eingedampft (1,3 g); ESI-MS $[M+H^+]$: 477,15.

c) Methylester I.B.63b (0,54 g) wurde mit 50 ml 2n HCl versetzt und 4 h lang auf Rückfluß erhitzt. Anschließend wurde die Mischung eingedampft und das erhaltene Rohprodukt mittels RP-MPLC gereinigt (60 mg); ESI-MS $[M+H^+]$ = 463,18.

Beispiel I.B.64

[5-(5-{{(Benzylamino)carbonyl}amino}pentyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

5 a) 3 g (10,13 mmol) Methyl-(6-oxo-5,6-dihydro-11H-dibenzo[b,e]-azepin-11-yl)acetat 4a in 100 ml DMF wurden mit 1,12 g Kaliumtert.butylat versetzt und 30 min. bei RT gerührt. Anschließend wurden 2,95 g 2-(5-Bromopentyl)-1H-isoindole-1,3(2H)-dion zugegeben und 14 h gerührt. Nach beendeter 10 Reaktion wurde die Mischung auf Eiswasser gegossen, mit Ethylacetat extrahiert, die organische Phase 5x mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und getrocknet. Das nach dem Eindampfen erhaltene Rohprodukt wurde durch Chromatographie an Kieselgel (CH_2Cl_2) gereinigt (3,5 g).

15 b) Hydrolyse mit Hydrazinhydrat und übliche Aufarbeitung ergab das freie Amin, das ebenfalls durch Chromatographie an Kieselgel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 0 bis 10 %) gereinigt wurde. Anschließende Umsetzung mit Benzylisocyanat in 55 ml 20 Toluol/DMF 10:1 und übliche Aufarbeitung ergab 260 mg; ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+] = 500,25$.

25 c) Hydrolyse des Methylesters unter Standardbedingungen ergab 10 mg der Titelverbindung; ESI-MS $[\text{M}+\text{K}^+] = 524,3$, $[\text{M}+\text{H}^+] = 486,2$, 243,6.

Beispiel I.B.65

Methyl-(5-{2-[(4-aminobenzyl)oxy]ethyl}-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat (Hydrochlorid)

30 a) Zu 36 mmol Lithiumdiisopropylamid in 200 ml THF wurde bei 0°C Methyl-(6-oxo-5,6-dihydro-11H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat 4a (10 g; 35,55 mmol) - gelöst in 200 ml THF - langsam zugetropft und 1 h bei 0°C nachgerührt. Anschließend wurden 35 ca. 100 ml Ethylenoxyd zugegeben und die Reaktionsmischung über Nacht bei ca. 10°C aufbewahrt. Am nächsten Tag wurden erneut ca. 50 ml Ethylenoxyd zugegeben und unter Eigendruck 48 h lang bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Mischung in gesättigte NH_4Cl -Lösung gegossen, mit Ethylacetat extrahiert und die organische Phase mit 1 n HCl und dann mit H_2O gewaschen. Das nach Trocknen und Einengen erhaltene Rohprodukt wurde durch Chromatographie an Kieselgel (n-Heptan/Ethylacetat 0 bis 30 %) gereinigt (4 g); ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+] = 326$.

124

b) Zu einer Suspension von 0,4 g NaH (60%; entölt mit n-Pentan) in 100 ml DMF wurde bei 0°C eine Lösung des Alkohols I.B.65a (3,2 g; 9,84 mmol) in 50 ml DMF zugetropft und zur vollständigen Bildung des Anions ca. 1 h gerührt. Anschließend wurden 9,5 g 4-Nitrobenzylbromid - gelöst in 50 ml DMF - zugesetzt und 48 h bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Mischung in gesättigte NH₄Cl-Lösung gegossen, mit Ethylacetat extrahiert und die organische Phase 5x mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Das nach Trocknen und Einengen 10 erhaltene Rohprodukt wurde durch Chromatographie an Kieselgel (n-Heptan/Ethylacetat 0 bis 30 %) gereinigt (0,8 g).

c) Reduktion der Nitroverbindung I.B.65b (0,65 g; 1,41 mmol) mit H₂ und 10 % Pd auf Aktivkohle in 100 ml CH₃OH ergab 15 nach Aufarbeitung 650 mg der Titelverbindung; ESI-MS [M+K⁺] = 469.1, [M+Na⁺] = 453.15, [M+H⁺] = 431.25, 236.6, 216.15.

Beispiel I.B.66

(5-{2-[(4-{{(Benzylamino)carbonyl}amino}benzyl)oxy]ethyl}-
20 6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat

0,65 g (1,51 mmol) des Methylesters I.B.65 wurden mit 0,23 g Benzylisocyanat und 0,17 g Triethylamin in 100 ml CH₂Cl₂ in den entsprechenden Benzylharnstoff überführt (Reinigung des 25 Rohprodukts durch Chromatographie an Kieselgel (CH₂Cl₂/Ethanol)). Verseifung des Esters analog zu I.B.1 ergab 22 mg der Titelverbindung; ESI-MS [M+K⁺] = 588,3, [M+H⁺] = 550,25.

Beispiel I.B.67

30 {5-[4-(4-{{(Benzylamino)carbonyl}amino}phenyl)butyl]-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat

a) Zu einer Suspension von 0,3 g NaH (60%; entölt mit n-Pentan) in 30 ml DMF wurde bei 0°C eine Lösung von Methyl-(6-oxo-35 5,6-dihydro-11H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat 4a (0,2 g; 0,72 mmol) in 10 ml DMF zugetropft und 1 h lang zur vollständigen Bildung des Anions nachgerührt. Anschließend wurde die Mischung auf 75°C erhitzt und eine Lösung von 4-(4-Nitrophenyl)butylmethansulfonat (0,2 g) in DMF zugegeben. Die 40 Mischung wurde 3 h lang bei 75°C gerührt, zur Aufarbeitung dann in gesättigte NH₄Cl-Lösung gegossen, mit Ethylacetat extrahiert, die organische Phase 4x mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und eingeeengt. Alkalische Extraktion des 45 so erhaltenen Rohprodukts ergab 130mg {5-[4-(4-nitrophenyl)-butyl]-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl}acetat; ESI-MS [M+H⁺] = 445.

125

b) Reduktion der Nitroverbindung analog zu I.B.65 ergab das entsprechende Amin (56 mg; ESI-MS $[M+H^+]$ = 415), das dann analog zu I.B.66 mit 0,02 g Benzylisocyanat und 0,015 g Triethylamin in den Benzylharnstoff überführt wurde. Reinigung des Rohprodukts durch Chromatographie an Kieselgel ergab 5 mg; ESI-MS $[M+K^+]$ = 586,2, $[M+H^+]$: 548,3, 274,6.

Beispiel I.B.68

N-[4-[(5-(Carboxymethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]-10 azepin-11-yl)acetyl]amino]methylphenyl]-1H-benzimidazol-2-amin (Hydrochlorid)

a) 0,5 g (1,26 mmol) Methyl-[5-(2-tert-Butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat (2) wurden nach Standardmethode mit LiOH in Ethanol/H₂O zu [5-(2-tert-Butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat verseift. Kupplung der Säure mit N-[4-(Aminomethyl)phenyl]-1H-benzimidazol-2-amin (Hydrochlorid) (47) unter Verwendung von HATU als Kupplungsreagens und Chromatographie des erhaltenen Rohprodukts an Kieselgel (CH₂Cl₂/CH₃OH 0 bis 2 %) ergab 170 mg tert-Butyl-[11-(2-[(4-(1H-benzimidazol-2-ylamino)benzyl]amino)-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-yl]acetat; ESI-MS $[M+H^+]$: 602.

b) TFA-Spaltung, Lösen des Rohprodukts in CH₂Cl₂ und Überführung in das entsprechende Hydrochlorid (HCl in Diethylether; gesättigt bei 0°C) ergab 25 mg der Titelverbindung; ESI-MS $[M+H^+]$: 546,2.

analog wurden hergestellt:

Beispiel I.B.69

[5-(2-[(3-(4-Methyl-1H-imidazol-1-yl)propyl]amino)-2-oxoethyl)-35 6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

2 mg; ESI-MS $[M+H^+]$ = 447.

Beispiel I.B.70

40 [5-(2-[(3-(4-Methyl-1-piperazinyl)propyl]amino)-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

4 mg; ESI-MS $[M+H^+]$ = 465.

126

Beispiel I.B.71

(6-Oxo-5-{2-oxo-2-[(3-pyridinylmethyl)amino]ethyl}-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat

5 3 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 416.

Beispiel I.B.72

[5-{2-[(3-(1H-Imidazol-1-yl)propyl)amino]-2-oxoethyl}-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

10

3 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 433.

Beispiel I.B.73

[5-{2-[(1-Methyl-2-(4-morpholinyl)ethyl)amino]-2-oxoethyl}-6-oxo-15 6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

3 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 452.

Beispiel I.B.74

20 [5-{2-[(1-Ethyl-2-pyrrolidinyl)methyl]amino}-2-oxoethyl]-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

2 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 436.

25 Beispiel I.B.75

(6-Oxo-5-{2-oxo-2-[4-(4-pyridinylmethyl)-1-piperazinyl]ethyl}-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat

4 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 485.

30

Beispiel I.B.76

[6-Oxo-5-(2-oxo-2-{4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethyl]-1-piperazinyl}-ethyl)-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

35 2 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 491.

Beispiel I.B.77

[5-{2-[4-[2-(Diethylamino)ethyl]-1-piperazinyl]-2-oxoethyl}-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

40

2 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 493.

45

Beispiel I.B.78

[5-(2-{2-(4-Morpholinyl)ethyl}-1-piperazinyl)-2-oxoethyl]-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

5 4 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 507.

Beispiel I.B.79

(6-Oxo-5-{2-oxo-2-[4-(2-pyrimidinyl)-1-piperazinyl]ethyl}-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat

10

3 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 472.

Beispiel I.B.80

(6-Oxo-5-{2-oxo-2-[(2-pyridinylmethyl)amino]ethyl}-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat

2 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 416.

Beispiel I.B.81

20 [5-(2-{[2-(4-Morpholinyl)ethyl]amino}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

3 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 438.

25 Beispiel I.B.82

[5-(2-{[3-(Dibutylamino)propyl]amino}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

1 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 494.

30

Beispiel I.B.83

(6-Oxo-5-{2-oxo-2-[4-(4-pyridinyl)-1-piperazinyl]ethyl}-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat

35 2 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 471.

Beispiel I.B.84

[5-(2-{4-[3-(4-Morpholinyl)propyl]-1-piperazinyl}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

40

3 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 521.

128

Beispiel I.B.85

[5-(2-{{3-(2-Methyl-1H-imidazol-1-yl)propyl}amino}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

5. 1 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 447.

Beispiel I.B.86

(6-Oxo-5-{2-oxo-2-[(4-pyridinylmethyl)amino]ethyl}-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat

10

1 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 416.

Beispiel I.B.87

(5-{2-[(1-Methyl-4-piperidinyl)amino]-2-oxoethyl}-6-oxo-6,11-di-15 hydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat

2 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 422.

Beispiel I.B.88

20 [6-Oxo-5-(2-oxo-2-{{2-(1-piperidinyl)ethyl}amino}ethyl)-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

1 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 436.

25 Beispiel I.B.89

[6-Oxo-5-(2-oxo-2-{4-[3-(1-pyrrolidinyl)propyl]-1-piperazinyl}-ethyl)-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

1 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 505.

30

Beispiel I.B.90

[5-(2-{4-[2-(Dimethylamino)ethyl]-1-piperazinyl}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

35 2 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 465.

Beispiel I.B.91

[5-(2-{4-[3-(Dimethylamino)propyl]-1-piperazinyl}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

40

1 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 479.

Beispiel I.B.92

[5-(2-{4-[2-(Dipropylamino)ethyl]-1-piperazinyl}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

5 1 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 521.

Beispiel I.B.93

[6-Oxo-5-(2-oxo-2-{4-[2-(1-piperidinyl)ethyl]-1-piperazinyl}-ethyl)-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

10

2 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 505.

Beispiel I.B.94

[5-(2-{4-[3-(Dipropylamino)propyl]-1-piperazinyl}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

15 2 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 535.

Beispiel I.B.95

20 [5-(2-{{4-(Dibutylamino)butyl}amino}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

2 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 508.

25 Beispiel I.B.96

[6-Oxo-5-(2-oxo-2-{4-[2-oxo-2-(1-pyrrolidinyl)ethyl]-1-piperazinyl}ethyl)-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

3 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 505.

30

Beispiel I.B.97

[5-(2-{{3-(Diethylamino)propyl}amino}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

35 1 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 438.

Beispiel I.B.98

[5-(2-{{2-(Dimethylamino)ethyl}amino}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

40

1 mg; ESI-MS [M+H⁺] = 396.

45

Beispiel I.B.99

[5-(2-{{4-(Dimethylamino)butyl}amino}-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]acetat

5 1 mg; ESI-MS $[M+H^+]$ = 424.

Beispiel I.B.100

Methyl-(3E/Z)-3-(5-{2-[(4-{{(benzylamino)carbonyl}amino}benzyl)amino]-2-oxoethyl}-6-oxo-5,6-dihydro-11H-dibenzo[b,e]azepin-11-yliden)propanoat

10

Kupplung von [(11Z/E)-11-(3-Methoxy-3-oxopropyliden)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-yl]acetat (69) mit

N -[4-(Aminomethyl)phenyl]- N' -benzylharnstoff (Trifluoracetat)

15

(58) unter Verwendung von HATU als Kupplungsreagens ergab 65 mg;

ESI-MS $[M+K^+]$ = 627,5, $[M+H^+]$ = 589,3.

Beispiel I.B.101

(3E/Z)-3-(5-{2-[(4-{{(benzylamino)carbonyl}amino}benzyl)amino]-

20 2-oxoethyl}-6-oxo-5,6-dihydro-11H-dibenzo[b,e]azepin-11-yliden)-
propansäure

Hydrolyse des Methylesters aus Beispiel I.B.100 und Aufreinigung
des Rohprodukts durch Chromatographie an Kieselgel (CH_2Cl_2/CH_3OH

25 0 bis 20 %) ergab 21mg; ESI-MS $[M+K^+]$ = 613,2, $[M+Na^+]$ = 597,2,
 $[M+H^+]$ = 575,2.

Beispiel I.B.102

Methyl-3-(5-{2-[(4-{{(benzylamino)carbonyl}amino}benzyl)amino]-
20 2-oxoethyl}-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)-
propanoat

Kupplung von [11-(3-Methoxy-3-oxopropyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-
dibenzo[b,e]azepin-5-yl]acetat (70) mit mit N -[4-(Aminomethyl)-

35 phenyl]- N' -benzylharnstoff (Trifluoracetat) (58) unter Ver-
wendung von HATU als Kupplungsreagens ergab 140 mg; ESI-MS
 $[M+K^+]$ = 629,2, $[M+H^+]$: 591,25, 296,1.

Beispiel I.B.103

40 3-(5-{2-[(4-{{(Benzylamino)carbonyl}amino}benzyl)amino]-2-oxo-
ethyl}-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)propansäure

Hydrolyse des Methylesters aus Beispiel I.B.102 ergab 83 mg der
Titelverbindung; ESI-MS $[M+K^+]$ = 615,2, $[M+H^+]$: 577,25, 289,1.

Beispiel I.B.104

Methyl-3-[6-oxo-5-(2-oxo-2-{{2-(2-pyridinylamino)ethyl}amino}-ethyl)-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]propanoat

5 Kupplung von [11-(3-Methoxy-3-oxopropyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-yl]acetat (70) mit *N*¹-(2-Pyridinyl)-1,2-ethandiamin und Aufreinigung des Rohprodukts durch Chromatographie an Kieselgel (CH₂Cl₂/CH₃OH 0 bis 5 %) ergab 3 mg; ESI-MS [M+H⁺]: 473.

10

Beispiel I.B.105

3-[6-Oxo-5-(2-oxo-2-{{2-(2-pyridinylamino)ethyl}amino}ethyl)-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl]propansäure (Na-Salz)

15 Hydrolyse des Methylesters aus Beispiel I.B.102 ergab 3 mg der Titelverbindung; ESI-MS [M+K⁺] = 497,1, [M+H⁺]: 459,15.

Beispiel I.B.106

Methyl-(2E/Z)-(5-{2-[(4-{{(benzylamino)carbonyl}amino}benzyl)-amino]-2-oxoethyl}-4-oxo-4,5-dihydro-10H-thieno[3,4-c][1]benzazepin-10-yliden)ethanoat

Kupplung von ((10E/Z)-10-(2-Methoxy-2-oxoethyliden)-4-oxo-4H-thieno[3,4-c][1]benzazepin-5(10H)-yl)acetat (71) mit *N*-[4-(Aminomethyl)phenyl]-*N'*-benzylharnstoff (Trifluoracetat) (58) ergab 98 mg; ESI-MS [M+K⁺] = 619,2, [M+H⁺] = 581,15, 291,1.

Beispiel I.B.107

(2E)-(5-{2-[(4-{{(Benzylamino)carbonyl}amino}benzyl)amino]-2-oxoethyl}-4-oxo-4,5-dihydro-10H-thieno[3,4-c][1]benzazepin-10-yliden)ethansäure

Hydrolyse des Methylesters I.B.106 ergab 24 mg der Titelverbindung; ESI-MS [M+K⁺] = 605,15, [M+H⁺]: 567,15, 284,2.

35

Beispiel I.B.108

Methyl-[5-(2-{{4-(1H-benzimidazol-2-ylamino)benzyl}amino}-2-oxoethyl)-4-oxo-5,10-dihydro-4H-thieno[3,4-c][1]benzazepin-10-yl]-acetat

40

Kupplung von (10-(2-Methoxy-2-oxoethyl)-4-oxo-4H-thieno[3,4-c]-[1]benzazepin-5(10H)-yl)acetat (72) mit *N*-[4-(Aminomethyl)phenyl]-1H-benzimidazol-2-amin (Hydrochlorid) (47) und Reinigung des Rohprodukts durch Chromatographie an Kieselgel (CH₂Cl₂/CH₃OH 0 bis 2 %) ergab 47 mg; ESI-MS [M+H⁺]: 566,2.

Beispiel I.B.109

[5-(2-{{4-(1H-Benzimidazol-2-ylamino)benzyl}amino}-2-oxoethyl)-4-oxo-5,10-dihydro-4H-thieno[3,4-c][1]benzazepin-10-yl]acetat

5 Hydrolyse des Methylesters I.B.108 ergab 9 mg der Titelverbindung; ESI-MS [M+H⁺]: 552,22.

Beispiel I.B.110

Methyl-(2E/Z)-(4-{2-[(4-{{(Benzylamino)carbonyl}amino}benzyl)amino]-2-oxoethyl}-5-oxo-4,5-dihydro-9H-dithieno[3,4-b:3,4-e]azepin-9-yliden)ethanoat

Kupplung von ((9E/Z)-9-(2-Methoxy-2-oxoethyliden)-5-oxo-9H-dithieno[3,4-b:3,4-e]azepin-4(5H)-yl)acetat (73) mit N-[4-(Aminomethyl)phenyl]-N'-benzylharnstoff (Trifluoracetat) (58) ergab 55 mg der Titelverbindung; ESI-MS [M+K⁺] = 625,05, [M+H⁺]: 587,15.

Beispiel I.B.111

(2E/Z)-(4-{2-[(4-{{(Benzylamino)carbonyl}amino}benzyl)amino]-2-oxoethyl}-5-oxo-4,5-dihydro-9H-dithieno[3,4-b:3,4-e]azepin-9-yliden)ethanoat

Hydrolyse des Methylesters I.B.110 ergab 10mg der Titelverbindung; ESI-MS [M+K⁺] = 611,0, [M+H⁺]: 573,2, 129,15, 100,2.

25

Beispiel I.B.112

Methyl-[4-(2-{{4-(1H-Benzimidazol-2-ylamino)benzyl}amino}-2-oxoethyl)-5-oxo-4,5-dihydro-9H-dithieno[3,4-b:3,4-e]azepin-9-yl]acetat

30

Kupplung von (9-(2-Methoxy-2-oxoethyl)-5-oxo-9H-dithieno[3,4-b:3,4-e]azepin-4(5H)-yl)acetat (74) mit N-[4-(Aminomethyl)phenyl]-1H-benzimidazol-2-amin (Hydrochlorid) (47) ergab 21 mg der Titelverbindung; ESI-MS [M+H⁺]: 573.

35

Beispiel I.B.113

[4-(2-{{4-(1H-Benzimidazol-2-ylamino)benzyl}amino}-2-oxoethyl)-5-oxo-4,5-dihydro-9H-dithieno[3,4-b:3,4-e]azepin-9-yl]acetat (Na-Salz)

40

Hydrolyse des Methylesters I.B.112 ergab 10 mg der Titelverbindung; ESI-MS [M+H⁺]: 558,05, 502,1.

45

Beispiel I.B.114

(5-{{[4-({[4-(1H-Benzimidazol-2-yl)benzyl]amino}carbonyl)-1,3-thiazol-2-yl]methyl}-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat

5

Kupplung von 2-{{[11-(2-tert-Butoxy-2-oxoethyl)-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-5-yl]methyl}-1,3-thiazol-4-carbonsäure (75) mit [4-(1H-Benzimidazol-2-yl)benzylmethylamin aus Baustein 14 ergab 15 mg der Titelverbindung ESI-MS [M+H⁺]: 614,25.

10

analog zu I.B.114 wurden hergestellt:

Beispiel I.B.115

(6-Oxo-5-{{[4-({[2-pyridinylamino)methyl]-1-piperidinyl}-

15 carbonyl)-1,3-thiazol-2-yl]methyl}-6,11-dihydro-5H-dibenzo[b,e]azepin-11-yl)acetat

60 mg; ESI-MS [M+H⁺]: 528.25.

20 Beispiel I.B.116

{5-[(4-{{[({Benzylamino}carbonyl)amino]benzyl}amino)- carbonyl)-1,3-thiazol-2-yl]methyl}-6-oxo-6,11-dihydro-5H-dibenzo-[b,e]azepin-11-yl)acetat

25 25 mg; ESI-MS [M+H⁺]: 646,25.

Beispiel I.B.117

[6-Oxo-5-({4-{{[({2-pyridinylamino)methyl]benzyl}amino)- carbonyl}-1,3-thiazol-2-yl]methyl}-6,11-dihydro-5H-dibenzo-

30 [b,e]azepin-11-yl)acetat

15 mg; ESI-MS [M+H⁺]: 604,15.

Beispiel I.B.118

35 {6-Oxo-5-[(4-{{[({2-pyridinylamino)methyl}-2-thienyl)methyl}amino]carbonyl)-1,3-thiazol-2-yl]methyl}-6,11-dihydro-5H-dibenzo-[b,e]azepin-11-yl)acetat

70 mg; ESI-MS [M+H⁺]: 610.15.

40

45

II. Biologische Beispiele

Beispiel 1

Integrin $\alpha_v\beta_3$ -Assay

5

Zur Identifizierung und Bewertung von Integrin- $\alpha_v\beta_3$ Antagonisten wurde ein Testsystem verwendet, das auf einer Kompetition zwischen dem natürlichen Integrin $\alpha_v\beta_3$ -Liganden Vitronectin und der Testsubstanz um die Bindung an Festphasen-gebundenes 10 Integrin- $\alpha_v\beta_3$ basiert.

Durchführung

- Microtiterplatten beschichten mit 250 ng/ml Integrin- $\alpha_v\beta_3$ 15 in 0,05 M NaHCO₃ pH 9,2; 0,1 ml/well;

- Absättigen mit 1 % Milchpulver/Assaypuffer; 0,3 ml/well; 0,5 h/RT

20 - 3x Waschen mit 0,05 % Tween 20/Assaypuffer

- Testsubstanz in 0,1 % Milchpulver/Assaypuffer, 50 μ l/well + 0 μ g/ml bzw. 2 μ g/ml human Vitronectin (Boehringer Ingelheim T007) in 0,1 % Milchpulver/Assaypuffer, 50 μ l/well; 1 h/RT

25

- 3x Waschen mit 0,05 % Tween 20/Assaypuffer

- 1 μ g/ml anti human Vitronectin Antikörper gekoppelt an Peroxidase (Kordia SAVN-APHRP) in 0,1 % Milchpulver/Assay- 30 puffer; 0,1 ml/well; 1 h/RT

- 3x Waschen mit 0,05 % Tween 20/Assaypuffer

- 0,1 ml/well Peroxidasesubstrat

35

- Reaktion stoppen mit 0,1 ml/well 2 M H₂SO₄

- Messung der Absorption bei 450 nm

40 Integrin- $\alpha_v\beta_3$: Human-Placenta wird mit Nonidet solubilisiert und Integrin- $\alpha_v\beta_3$ an einer GRGDSPK-Matrix affinitätsgereinigt (Elution mit EDTA). Verunreinigungen durch Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ und humanes Serumalbumin sowie das Detergens und EDTA werden durch Anionenaustauschchromatographie entfernt.

45

135

Assaypuffer: 50 mM Tris pH 7,5; 100 mM NaCl; 1 mM CaCl₂; 1 mM MgCl₂; 10 µM MnCl₂

Peroxidasesubstrat: 0,1 ml TMB-Lösung (42 mM TMB in DMSO) und 10 ml Substratpuffer (0,1 M Na-Aacetat pH 4,9) mischen, dann

5 Zusatz von 14,7 µl 3 % H₂O₂.

In dem Assay werden verschiedene Verdünnungen der Testsubstanzen eingesetzt und die IC₅₀-Werte bestimmt (Konzentration des Antagonisten, bei der 50 % des Liganden verdrängt werden).

10 Dabei zeigte die Verbindungen der Beispiele I.B.37, I.B.46, I.B.52 und I.B.118 das beste Ergebnis.

Beispiel 2

Integrin α_{IIb}β₃-Assay

15

Der Assay basiert auf einer Kompetition zwischen dem natürlichen Integrin-α_{IIb}β₃ Liganden Fibrinogen und der Testsubstanz um Bindung an Integrin-α_{IIb}β₃.

20 Durchführung

- Microtiterplatten beschichten mit 10 µg/ml Fibrinogen (Calbiochem 341578) in 0,05 M NaHCO₃ pH 9,2; 0,1 ml/well;
- 25 - Absättigen mit 1 % BSA/PBS; 0,3 ml/well; 30 min/RT
- 3x Waschen mit 0,05 % Tween 20/PBS
- Testsubstanz in 0,1 % BSA/PBS; 50 µl/well +
- 30 200 µg/ml Integrin-α_{IIb}β₃ (Kordia) in 0,1 % BSA/PBS; 50 µl/well; 2 bis 4 h/RT
- 3x Waschen wie oben
- 35 - biotinylierter anti Integrin-α_{IIb}β₃ Antikörper (Dianova CBL 130 B); 1:1000 in 0,1 % BSA/PBS; 0,1 ml/well; 2 bis 4 h/RT
- 3x Waschen wie oben
- Streptavidin-Peroxidase Komplex (B.M. 1089153) 1:10000 in 0,1 %
- 40 BSA/PBS; 0,1 ml/well; 30 min/RT
- 3x Waschen wie oben
- 0,1 ml/well Peroxidasesubstrat
- 45 - Reaktion stoppen mit 0,1 ml/well 2 M H₂SO₄

136

- Messung der Absorption bei 450 nm

Peroxidasesubstrat: 0,1 ml TMB-Lösung (42 mM TMB in DMSO) und 10 ml Substratpuffer (0,1 M Na-acetat pH 4,9) mischen, dann

5 Zusatz von 14,7 μ l 3 % H_2O_2

In dem Assay werden verschiedene Verdünnungen der Testsubstanzen eingesetzt und die IC_{50} -Werte bestimmt (Konzentration des Antagonisten, bei der 50 % des Liganden verdrängt werden).

10 Durch Vergleich der IC_{50} -Werte im Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ - und Integrin $\alpha_v\beta_3$ -Assay kann die Selektivität der Substanzen bestimmt werden.

Beispiel 3

CAM-Assay

15

Der CAM (Chorioallantoinmembran) Assay dient als allgemein anerkanntes Modell zur Beurteilung der *in vivo* Aktivität von Integrin $\alpha_v\beta_3$ -Antagonisten. Er beruht auf der Inhibition von Angiogenese und Neovaskularisation von Tumorgewebe (Am. J. Pathol. 1975, 79,

20 597-618; Cancer Res. 1980, 40, 2300-2309; Nature 1987, 329, 630). Die Durchführung erfolgt analog zum Stand der Technik. Das Wachstum der Hühnerembryo-Blutgefäße und des transplantierten Tumorgewebes ist gut zu verfolgen und zu bewerten.

25 Beispiel 4

Kaninchenaugen-Assay

In diesem *in vivo* Modell kann analog zu Beispiel 3 die Inhibition der Angiogenese und Neovaskularisation in Gegenwart von Integrin

30 $\alpha_v\beta_3$ -Antagonisten verfolgt und bewertet werden. Das Modell ist allgemein anerkannt und beruht auf dem Wachstum der Kaninchenblutgefäße ausgehend vom Rand in die Cornea des Auges (Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1994, 91, 4082-4085; Science 1976, 193, 70-72). Die Durchführung erfolgt analog zum Stand der Technik.

35

40

45

Patentansprüche

1. Verbindungen der Formel I

5

B-G-L

I

wobei B, G und L folgende Bedeutung haben:

10 L ein Strukturelement der Formel I_L

-U-T

I_L

wobei

15

T eine Gruppe COOH oder einen zu COOH hydrolysebaren Rest und

20 -U- -(X_L)_a-(CR_L¹R_L²)_b-, -CR_L¹=CR_L²-, Ethinylen oder =CR_L¹- bedeuten, wobei

25 a 0 oder 1,

b 0, 1 oder 2

25

X_L CR_L³R_L⁴, NR_L⁵, Sauerstoff oder Schwefel,R_L¹, R_L², R_L³, R_L⁴30 unabhängig voneinander Wasserstoff, -T, -OH, -NR_L⁶R_L⁷, -CO-NH₂, einen Halogenrest, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-, C₂-C₆-Alkenyl-, C₂-C₆-Alkinylen-, C₃-C₇-Cycloalkyl-, -CO-NH(C₁-C₆-Alkyl), -CO-N(C₁-C₆-Alkyl)₂ oder C₁-C₄-Alkoxyrest, einen gegebenenfalls substituierten Rest C₁-C₂-Alkylen-T, C₂-Alkenylen-T oder C₂-Alkinylen-T, einen gegebenenfalls substituierten Aryl- oder Arylalkylrest oder jeweils unabhängig voneinander zwei Reste R_L¹ und R_L² oder R_L³ und R_L⁴ oder gegebenenfalls R_L¹ und R_L³ zusammen einen, gegebenenfalls substituierten 3 bis 7gliedrigen gesättigten oder ungesättigten Carbocyclus oder Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann,

45

138

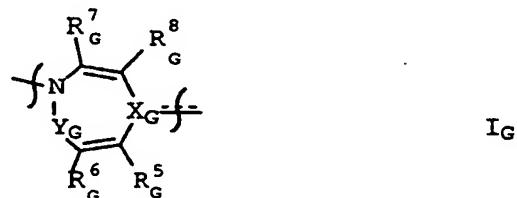
 R_L^5, R_L^6, R_L^7

5 unabhängig voneinander Wasserstoff, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1-C_6 -Alkyl-, C_3-C_7 -Cycloalkyl-, $CO-O-C_1-C_6$ -Alkyl-, $SO_2-C_1-C_6$ -Alkyl- oder $CO-C_1-C_6$ -Alkylrest oder einen, gegebenenfalls substituierten $CO-O$ -Alkylen-Aryl-, SO_2 -Aryl-, CO -Aryl-, SO_2 -Alkylen-Aryl- oder CO -Alkylen-Arylrest,

10 bedeuten,

G ein Strukturelement der Formel I_G

15



20

wobei

der Einbau des Strukturelements G in beiden Orientierungen erfolgen kann und

25

X_G Stickstoff oder CR_G^1 für den Fall, daß Strukturelement G mit Strukturelement L oder B über X_G über eine Einfachbindung verbunden ist

30

oder

Kohlenstoff für den Fall, daß Strukturelement G mit Strukturelement L über X_G über eine Doppelbindung verbunden ist,

35

Y_G CO , CS , $C=NR_G^2$ oder $CR_G^3R_G^4$,

wobei

40

R_G^1 Wasserstoff, Halogen, eine Hydroxy-Gruppe oder einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1-C_6 -Alkyl- oder C_1-C_4 -Alkoxyrest,

45

139

5 R_G^2 Wasserstoff, eine Hydroxy-Gruppe, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1 - C_6 -Alkyl-, C_1 - C_4 -Alkoxy-, C_3 - C_7 -Cycloalkyl- oder $-O-C_3-C_7$ -Cycloalkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten Aryl-, $-O$ -Aryl, Arylalkyl- oder $-O$ -Alkylen-Arylrest und

10 R_G^3 , R_G^4 unabhängig voneinander Wasserstoff oder einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1 - C_6 -Alkyl-, C_2 - C_6 -Alkenyl-, C_2 - C_6 -Alkinyl- oder C_1 - C_4 -Alkoxyrest oder beide Reste R_G^3 und R_G^4 zusammen ein cyclisches Acetal $-O-CH_2-CH_2-O-$ oder $-O-CH_2-O-$ oder beide Reste R_G^3 und R_G^4 zusammen einen, gegebenenfalls substituierten C_3 - C_7 -Cycloalkylrest,

15 bedeuten,

20 R_G^5 , R_G^6 , R_G^7 , R_G^8 unabhängig voneinander Wasserstoff, eine Amino- oder Hydroxygruppe, einen Rest $HN-CO-R_G^9$, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1 - C_6 -Alkyl- oder C_1 - C_4 -Alkoxyrest, einen gegebenenfalls substituierten Aryl- oder Arylalkylrest oder unabhängig voneinander jeweils zwei Reste R_G^5 und R_G^6 oder R_G^7 und R_G^8 zusammen einen, gegebenenfalls substituierten, anelierten, ungesättigten oder aromatischen 3- bis 6-gliedrigen Carbocyclus oder Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann, und

25 R_G^9 einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1 - C_6 -Alkyl- oder C_1 - C_4 -Alkoxyrest oder einen gegebenenfalls substituierten Aryl-, Hetaryl-, Arylalkyl- oder Hetarylalkylrest

30 bedeuten,

35 B ein Strukturelement, enthaltend mindestens ein Atom das unter physiologischen Bedingungen als Wasserstoff-Akzeptor Wasserstoffbrücken ausbilden kann, wobei mindestens ein Wasserstoff-Akzeptor-Atom entlang des kürzestmöglichen Weges entlang des Strukturelementgerüstes einen Abstand von 4 bis 13 Atombindungen zu Strukturelement G aufweist,

140

sowie die physiologisch verträglichen Salze, Prodrugs und die enantiomerenreinen oder diastereomerenreinen und tautomeren Formen.

5.2. Verbindungen gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Strukturelement B ein Strukturelement der Formel I_B

A-E- I_B

10 bedeutet, wobei A und E folgende Bedeutung haben:

A ein Strukturelement ausgewählt aus der Gruppe:

15 ein 5- bis 7-gliedriger monocyclischer gesättigter, ungesättigter oder aromatischer Ring mit 0 bis 4 Heteroatomen, ausgewählt aus der Gruppe O, N oder S, wobei jeweils unabhängig voneinander der gegebenenfalls enthaltene Ring-Stickstoff oder alle Kohlenstoffe substituiert sein können,

20 mit der Maßgabe daß mindestens ein Heteroatom, ausgewählt aus der Gruppe O, N oder S im Strukturelement A enthalten ist,

oder

25 30 ein 9- bis 14-gliedriges polycyclisches gesättigtes, ungesättigtes oder aromatisches System mit bis zu 6 Heteroatomen, ausgewählt aus der Gruppe N, O oder S, wobei jeweils unabhängig voneinander der gegebenenfalls enthaltene Ring-Stickstoff oder alle Kohlenstoffe substituiert sein können,

mit der Maßgabe daß mindestens ein Heteroatom, ausgewählt aus der Gruppe O, N oder S im Strukturelement A enthalten ist,

35 oder

ein Rest



wobei

45

141

Z_A^1 Sauerstoff, Schwefel oder gegebenenfalls substituierter Stickstoff und

5 Z_A^2 gegebenenfalls substituierten Stickstoff, Sauerstoff oder Schwefel

bedeuten,

und

10

E ein Spacer-Strukturelement, das Strukturelement A mit dem Strukturelement G kovalent verbindet, wobei die Anzahl der Atombindungen entlang des kürzestmöglichen Weges entlang des Strukturelementgerüstes E 4 bis 12 beträgt.

15

20

25

30

35

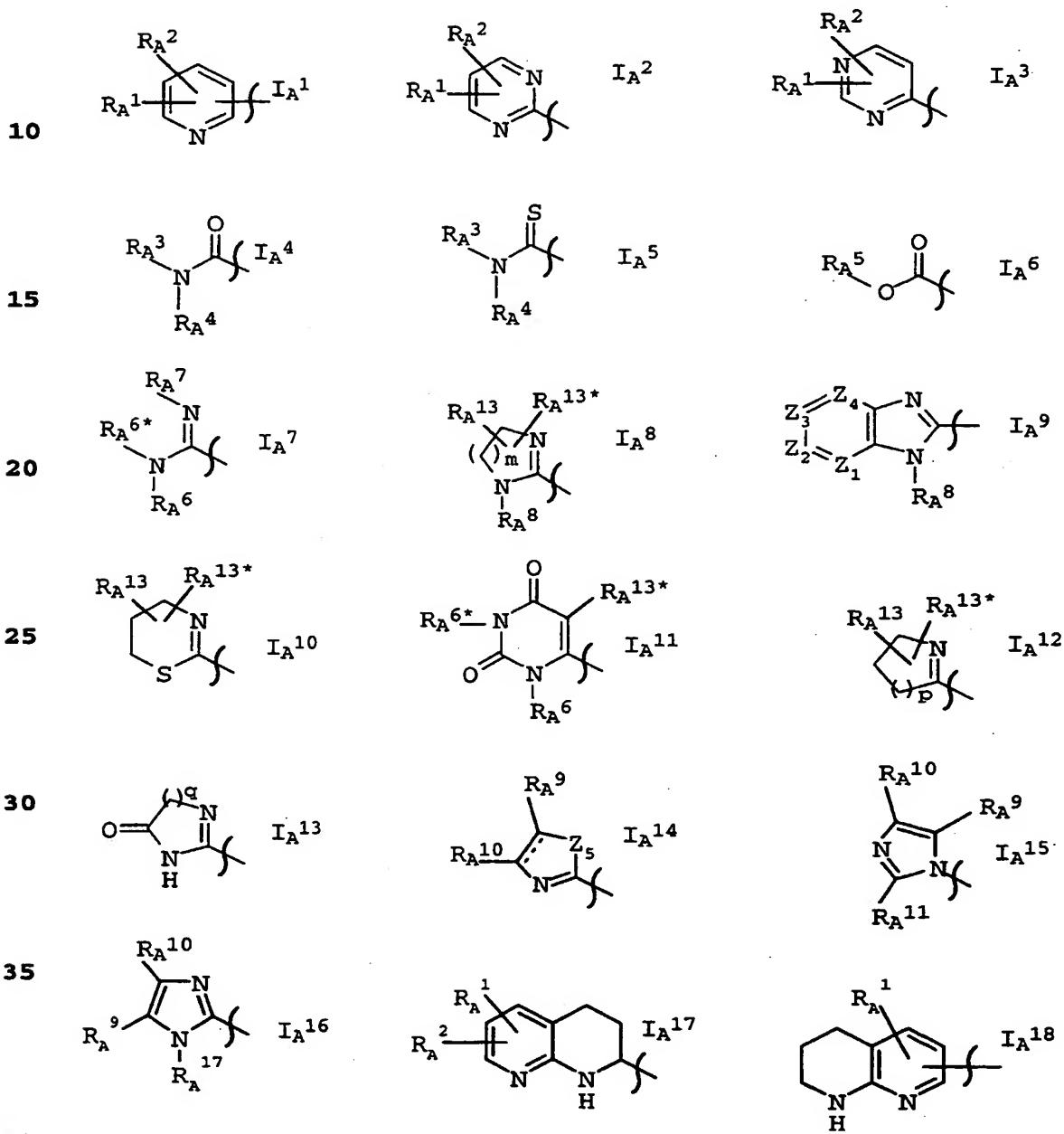
40

45

142

3. Verbindungen gemäß einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet daß man als Strukturelement A ein Strukturelement, ausgewählt aus der Gruppe der Strukturelemente der Formeln I_A^1 bis I_A^{18} verwendet,

5-



wobei

 m, p, q

unabhängig voneinander 1, 2 oder 3,

45

R_A^1, R_A^2

unabhängig voneinander Wasserstoff, CN, Halogen, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1-C_6 -Alkyl- oder $CO-C_1-C_6$ -Alkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten Aryl-, Arylalkyl-, Hetaryl-, Hetarylalkyl- oder C_3-C_7 -Cycloalkylrest oder einen Rest $CO-O-R_A^{14}$, $O-R_A^{14}$, $S-R_A^{14}$, $NR_A^{15}R_A^{16}$, $CO-NR_A^{15}R_A^{16}$ oder $SO_2NR_A^{15}R_A^{16}$ oder beide Reste R_A^1 und R_A^2 zusammen einen anelierten, gegebenenfalls substituierten, 5- oder 6-gliedrigen, ungesättigten oder aromatischen Carbocyclus oder Heterocyclus der bis zu drei Heteroatome, ausgewählt aus der Gruppe O, N, oder S enthalten kann,

 R_A^{13}, R_A^{13*}

unabhängig voneinander Wasserstoff, CN, Halogen, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1-C_6 -Alkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten Aryl-, Arylalkyl-, Hetaryl-, C_3-C_7 -Cycloalkylrest oder einen Rest $CO-O-R_A^{14}$, $O-R_A^{14}$, $S-R_A^{14}$, $NR_A^{15}R_A^{16}$ oder $CO-NR_A^{15}R_A^{16}$,

wobei

R_A^{14} Wasserstoff, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1-C_6 -Alkyl-, Alkylen- C_1-C_4 -Alkoxy-, C_2-C_6 -Alkenyl-, C_2-C_6 -Alkinyl- oder Alkylen-Cycloalkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten C_3-C_7 -Cycloalkyl-, Aryl-, Arylalkyl-, Hetaryl- oder Hetarylalkylrest,

R_A^{15}, R_A^{16} , unabhängig voneinander Wasserstoff, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1-C_6 -Alkyl-, $CO-C_1-C_6$ -Alkyl-, $SO_2-C_1-C_6$ -Alkyl-, $COO-C_1-C_6$ -Alkyl-, Arylalkyl-, COO -Alkylen-Aryl-, SO_2 -Alkylen-Aryl- oder Hetarylalkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten C_3-C_7 -Cycloalkyl-, Aryl-, CO -Aryl-, SO_2 -Aryl, Hetaryl oder CO -Hetarylrest bedeuten,

 R_A^3, R_A^4

unabhängig voneinander Wasserstoff, $-(CH_2)_n-(X_A)_j-R_A^{12}$, oder beide Reste zusammen einen 3 bis 8 gliedrigen, gesättigten, ungesättigten oder aromatischen N-Heterocyclus der zusätzlich zwei weitere, gleiche oder verschiedene Heteroatome O, N, oder S enthalten kann, wobei der Cyclus gegebenenfalls substituiert oder an diesem Cyclus ein

144

weiterer, gegebenenfalls substituierter, gesättigter, ungesättigter oder aromatischer Cyclus ankondensiert sein kann,

5 wobei

n 0, 1, 2 oder 3,

j 0 oder 1,

10

X_A $-SO_2-$, $-S-$, $-O-$, $-CO-$, $-O-CO-$, $-CO-O-$,
 $-CO-N(R_A^{12})-$, $-N(R_A^{12})-CO-$, $-N(R_A^{12})-SO_2-$ oder
 $SO_2-N(R_A^{12})-$ und

15

R_A^{12} Wasserstoff, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1-C_6 -Alkyl-, C_1-C_4 -Alkoxy, $-O$ -Alkylen-Aryl- oder $-O$ -Aryl-, einen primär oder gegebenenfalls sekundär oder tertiär substituierten Aminorest, einen gegebenenfalls mit C_1-C_4 -Alkyl oder Aryl substituierten C_2-C_6 -Alkinyl- oder C_2-C_6 -Alkenylrest oder einen mit bis zu drei gleichen oder verschiedenen Resten substituierten, 3-6gliedrigen, gesättigten oder ungesättigten Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann, C_3-C_7 -Cycloalkyl-, Aryl- oder Heteroarylrest, wobei zwei Reste zusammen einen anelierten, gesättigten, ungesättigten oder aromatischen Carbocyclus oder Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann, darstellen können und der Cyclus gegebenenfalls substituiert oder an diesem Cyclus ein weiterer, gegebenenfalls substituierter, gesättigter, ungesättigter oder aromatischer Cyclus ankondensiert sein kann,

20

25

30

35

R_A^5 einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1-C_6 -Alkyl-, Arylalkyl-, C_3-C_7 -Cycloalkyl- oder C_1-C_6 -Alkyl- C_3-C_7 -Cycloalkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten Arylrest,

R_A^6 , R_A^{6*}

40

Wasserstoff, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1-C_4 -Alkyl-, $-CO-O-C_1-C_4$ -Alkyl-, Arylalkyl-, $-CO-O$ -Alkylen-Aryl-, $-CO-O$ -Allyl-, $-CO-C_1-C_4$ -Alkyl-, $-CO$ -Alkylen-Aryl-, C_3-C_7 -Cycloalkyl- oder $-CO$ -Allylrest oder in Struktur-

145

element I_A^7 beide Reste R_A^6 und R_A^{6*} zusammen einen gegebenenfalls substituierten, gesättigten, ungesättigten oder aromatischen Heterocyclus, der zusätzlich zum Ringstickstoff bis zu zwei weitere verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann,

5 R_A^7 Wasserstoff, -OH, -CN, -CONH₂, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₄-Alkyl-, C₁-C₄-Alkoxy-, C₃-C₇-Cycloalkyl- oder -O-CO-C₁-C₄-Alkylrest, oder einen gegebenenfalls substituierten Arylalkyl-, -O-Alkylen-Aryl-, -O-CO-Aryl-, -O-CO-Alkylen-Aryl- oder -O-CO-Allylrest, oder beide Reste R_A^6 und R_A^7 zusammen einen gegebenenfalls substituierten, ungesättigten oder aromatischen Heterocyclus, der zusätzlich zum Ringstickstoff bis zu zwei weitere verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann,

10 R_A^8 Wasserstoff, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₄-Alkyl-, CO-C₁-C₄-Alkyl-, SO₂-C₁-C₄-Alkyl- oder CO-O-C₁-C₄-Alkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten Aryl-, CO-Aryl-, SO₂-Aryl, CO-O-Aryl, CO-Alkylen-Aryl-, SO₂-Alkylen-Aryl-, CO-O-Alkylen-Aryl- oder Alkylen-Arylrest,

15 R_A^9 , R_A^{10} unabhängig voneinander Wasserstoff, -CN, Halogen, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten Aryl-, Arylalkyl-, Hetaryl-, C₃-C₇-Cycloalkylrest oder einen Rest CO-O-R_A¹⁴, O-R_A¹⁴, S-R_A¹⁴, NR_A¹⁵R_A¹⁶ oder CO-NR_A¹⁵R_A¹⁶, oder beide Reste R_A^9 und R_A^{10} zusammen in Strukturelement I_A^{14} einen 5 bis 7 gliedrigen gesättigten, ungesättigten oder aromatischen Carbocyclus oder Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann und gegebenenfalls mit bis zu drei gleichen oder verschiedenen Resten substituiert ist,

20 R_A^{11} Wasserstoff, -CN, Halogen, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten Aryl-, Arylalkyl-, Hetaryl-, C₃-C₇-Cycloalkylrest oder einen Rest CO-O-R_A¹⁴, O-R_A¹⁴, S-R_A¹⁴, NR_A¹⁵R_A¹⁶ oder CO-NR_A¹⁵R_A¹⁶,

146

R_A^{17} in Strukturelement I_A^{16} beide Reste R_A^9 und R_A^{17} zusammen einen 5 bis 7gliedrigen gesättigten, ungesättigten oder aromatischen Heterocyclus, der zusätzlich zum Ringstickstoff bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann und gegebenenfalls mit bis zu drei gleichen oder verschiedenen Resten substituiert ist,

Z^1, Z^2, Z^3, Z^4

10 unabhängig voneinander Stickstoff, C-H, C-Halogen oder einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituieren C-C₁-C₄-Alkyl- oder C-C₁-C₄-Alkoxyrest,

Z^5 NR_A^8 , Sauerstoff oder Schwefel

15 bedeuten.

4. Verbindungen gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet daß man das Spacer-Strukturelement E aus zwei bis vier Teilstrukturelementen, ausgewählt aus der Gruppe E¹ 20 und E² zusammensetzt, wobei die Reihenfolge der Verknüpfung der Teilstrukturelemente beliebig ist und E¹ und E² folgende Bedeutung haben:

E¹ ein Teilstrukturelement der Formel I_{E1}

25 $-(X_E)_i-(CH_2)_c-CR_E^{11}R_E^{12}-(CH_2)_d-(Y_E)_l-$ I_{E1}

und

30 E² ein Teilstrukturelement der Formel I_{E2}

$-(NR_E^3)_e-(CR_E^4R_E^5)_f-(Q_E)_k-(CR_E^6R_E^7)_g-(NR_E^8)_h-$ I_{E2}

wobei

35

c, d, f, g

unabhängig voneinander 0, 1 oder 2,

e, h, i, k, l,

40

unabhängig voneinander 0 oder 1,

X_E, Q_E

45

unabhängig voneinander CO, CO-NR_E⁹, S, SO, SO₂, SO₂NR_E⁹, CS, CS-NR_E⁹, CS-O, CO-O, O-CO, O, Ethinyl, CR_E¹⁰-O-CR_E¹¹, CR_E¹⁰R_E¹¹, C(=CR_E¹⁰R_E¹¹), CR_E¹⁰=CR_E¹¹, CR_E¹⁰(OR_E¹²)-CR_E¹¹, CR_E¹⁰-CR_E¹¹(OR_E¹²) oder einen gegebenenfalls substituiert n 4 bis 11-gliedrigen

147

mono- oder polycyclischen aliphatischen oder aromatischen Kohlenwasserstoff, der bis zu 6 Doppelbindungen und bis zu 6 Heteroatome, ausgewählt aus der Gruppe N, O, S, enthalten kann,

5

Y_E -CO-, -NR_E⁹-CO-, -SO-, -SO₂-, -NR_E⁹-SO₂-, -CS-, -NR_E⁹-CS-, -O-CS- oder -O-CO-

10 R_E^1 , R_E^2 , R_E^4 , R_E^5 , R_E^6 , R_E^7
unabhängig voneinander Wasserstoff, Halogen, eine Hydroxygruppe, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-, C₁-C₄-Alkoxy-, C₂-C₆-Alkenyl-, C₂-C₆-Alkinyl- oder Alkylen-Cycloalkylrest, einen Rest -(CH₂)_w-R_E¹³, einen gegebenenfalls substituierten C₃-C₇-Cycloalkyl-, Aryl-, Arylalkyl-, Hetaryl-, Hetarylalkyl-, O-Aryl- oder O-Alkylen-Arylrest, oder unabhängig voneinander jeweils zwei Reste R_E^1 und R_E^2 oder R_E^4 und R_E^5 oder R_E^6 und R_E^7 zusammen einen 3 bis 7-gliedrigen, gegebenenfalls substituierten, gesättigten oder ungesättigten Carbocyclus,

15
20

wobei

25

w 0, 1, 2, 3 oder 4 bedeutet,

30

R_E^3 , R_E^8 , R_E^9

unabhängig voneinander Wasserstoff, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-, CO-C₁-C₆-Alkyl-, CO-O-C₁-C₆-Alkyl- oder SO₂-C₁-C₆-Alkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten C₃-C₇-Cycloalkyl-, CO-O-Alkylen-Aryl-, CO-Alkylen-Aryl-, CO-Aryl, SO₂-Aryl-, CO-Hetaryl- oder SO₂-Alkylen-Arylrest,

35

R_E^{10} , R_E^{11}

unabhängig voneinander Wasserstoff, eine Hydroxygruppe, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-,

40

C₁-C₄-Alkoxy-, C₂-C₆-Alkenyl-, C₂-C₆-Alkinyl- oder Alkylen-Cycloalkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten C₃-C₇-Cycloalkyl-, Aryl-, Arylalkyl-, Hetaryl- oder Hetarylalkylrest,

45

148

5 R_E^{12} Wasserstoff, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1 - C_6 -Alkyl-, C_2 - C_6 -Alkenyl-, C_2 - C_6 -Alkinyl- oder Alkylen-Cycloalkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten C_3 - C_7 -Cycloalkyl-, Aryl-, Arylalkyl-, Hetaryl- oder Hetarylalkylrest,

10 R_E^{13} Wasserstoff, eine Hydroxygruppe, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1 - C_6 -Alkyl-, C_1 - C_4 -Alkoxy-, -Arylalkyl, -O-Alkylen-Aryl- oder -O-Arylrest, einen primär oder gegebenenfalls sekundär oder tertiär substituierten Aminorest, einen gegebenenfalls mit C_1 - C_4 -Alkyl oder Aryl substituierten C_2 - C_6 -Alkinyl- oder C_2 - C_6 -Alkenylrest,

15 einen C_5 - C_{12} -Bicycloalkyl-, C_6 - C_{18} -Tricycloalkylrest, einen Rest $CO-O-R_A^{14}$, oder einen mit bis zu drei gleichen oder verschiedenen Resten substituierten, 3- bis 6gliedrigen, gesättigten oder ungesättigten Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann,

20 C_3 - C_7 -Cycloalkyl-, Aryl- oder Heteroarylrest, wobei zwei Reste zusammen einen anelierten, gesättigten, ungesättigten oder aromatischen Carbocyclus oder Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann,

25 darstellen können und der Cyclus gegebenenfalls substituiert oder an diesem Cyclus ein weiterer, gegebenenfalls substituierter, gesättigter, ungesättigter oder aromatischer Cyclus ankondensiert sein kann,

30 bedeuten.

5. Verbindungen gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß man als Spacer-Strukturelement E ein Strukturelement der Formel I_{E1E2} verwendet

- E_2-E_1-

I_{E1E2}

40 und E^1 und E^2 folgende Bedeutung haben:

E^1 ein Teilstukturelement der Formel I_{E1}

45

- $(X_E)_i-(CH_2)_c-CR_E^1R_E^2-(CH_2)_d-(Y_E)_l-$

I_{E1}

und

149

E² ein Teilstrukturelement der Formel I_{E2}

- (NR_E³)_e - (CR_E⁴R_E⁵)_f - (Q_E)_k - (CR_E⁶R_E⁷)_g - (NR_E⁸)_h - I_{E2},

5 wobei

c, d, f, g
unabhängig voneinander 0, 1 oder 2,

10 e, h, i, k, l,
unabhängig voneinander 0 oder 1,

15 X_E, Q_E
unabhängig voneinander CO, CO-NR_E⁹, S, SO, SO₂,
SO₂NR_E⁹, CS, CS-NR_E⁹, CS-O, CO-O, O-CO, O, Ethinyl,
CR_E¹⁰-O-CR_E¹¹, CR_E¹⁰R_E¹¹, C(=CR_E¹⁰R_E¹¹), CR_E¹⁰=CR_E¹¹,
CR_E¹⁰(OR_E¹²)-CR_E¹¹, CR_E¹⁰-CR_E¹¹(OR_E¹²) oder einen
gegebenfalls substituierten 4 bis 11-gliedrigen
mono- oder polycyclischen aliphatischen oder
20 aromatischen Kohlenwasserstoff, der bis zu 6 Doppel-
bindungen und bis zu 6 Heteroatome, ausgewählt aus
der Gruppe N, O, S, enthalten kann,

25 Y_E -CO-, -NR_E⁹-CO-, -SO-, -SO₂-, -NR_E⁹-SO₂-, -CS-,
-NR_E⁹-CS-, -O-CS- oder -O-CO-

30 R_E¹, R_E², R_E⁴, R_E⁵, R_E⁶, R_E⁷
unabhängig voneinander Wasserstoff, Halogen,
eine Hydroxygruppe, einen verzweigten oder unver-
zweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-,
C₁-C₄-Alkoxy-, C₂-C₆-Alkenyl-, C₂-C₆-Alkinyl- oder
Alkylen-Cycloalkylrest, einen Rest -(CH₂)_w-R_E¹³, einen
gegebenfalls substituierten C₃-C₇-Cycloalkyl-, Aryl-,
Arylalkyl-, Hetaryl-, Hetarylalkyl-, O-Aryl- oder
35 O-Alkylen-Arylrest, oder unabhängig voneinander
jeweils zwei Reste R_E¹ und R_E² oder R_E⁴ und R_E⁵
oder R_E⁶ und R_E⁷ zusammen einen 3 bis 7-gliedrigen,
gegebenenfalls substituierten, gesättigten oder
ungesättigten Carbocyclus,

40 wobei

w 0, 1, 2, 3 oder 4 bedeutet,

45

R_E³, R_E⁸, R_E⁹

5

unabhängig voneinander Wasserstoff, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-, CO-C₁-C₆-Alkyl-, CO-O-C₁-C₆-Alkyl- oder SO₂-C₁-C₆-Alkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten C₃-C₇-Cycloalkyl-, CO-O-Alkylen-Aryl-, CO-Alkylen-Aryl-, CO-Aryl, SO₂-Aryl-, CO-Hetaryl- oder SO₂-Alkylen-Arylrest,

10

R_E¹⁰, R_E¹¹

15

unabhängig voneinander Wasserstoff, eine Hydroxygruppe, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-, C₁-C₄-Alkoxy-, C₂-C₆-Alkenyl-, C₂-C₆-Alkinyl- oder Alkylen-Cycloalkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten C₃-C₇-Cycloalkyl-, Aryl-, Arylalkyl-, Hetaryl- oder Hetarylalkylrest,

20

R_E¹² Wasserstoff, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-, C₂-C₆-Alkenyl-, C₂-C₆-Alkinyl- oder Alkylen-Cycloalkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten C₃-C₇-Cycloalkyl-, Aryl-, Arylalkyl-, Hetaryl- oder Hetarylalkylrest,

25

R_E¹³ Wasserstoff, eine Hydroxygruppe, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-, C₁-C₄-Alkoxy-, Arylalkyl-, -O-Alkylen-Aryl- oder -O-Arylrest, einen primär oder gegebenenfalls sekundär oder tertiär substituierten Aminorest, einen gegebenenfalls mit C₁-C₄-Alkyl oder Aryl substituierten C₂-C₆-Alkinyl- oder C₂-C₆-Alkenylrest, einen C₅-C₁₂-Bicycloalkyl-, C₆-C₁₈-Tricycloalkylrest, einen Rest CO-O-R_A¹⁴, oder einen mit bis zu drei gleichen oder verschiedenen Resten substituierten, 3- bis 6gliedrigen, gesättigten oder ungesättigten Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann, C₃-C₇-Cycloalkyl-, Aryl- oder Heteroarylrest, wobei zwei Reste zusammen einen anelierten, gesättigten, ungesättigten oder aromatischen Carbocyclus oder Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann, darstellen können und der Cyclus gegebenenfalls substituiert oder an diesem Cyclus ein weiterer, gegebenenfalls substituierter, gesättigter, unge-

151

sättigter oder aromatischer Cyclus ankondensiert sein kann,

bedeuten.

5

6. Verwendung des Strukturelements der Formel I_{GL}

$-G-L$

I_{GL}

10 zur Herstellung von Verbindungen, die an Integrinrezeptoren binden,

wobei G und L folgende Bedeutung haben:

15 L ein Strukturelement der Formel I_L

$-U-T$

I_L

wobei

20

T eine Gruppe COOH oder einen zu COOH hydrolysebaren Rest und

25

$-U-$ $-(X_L)_a-(CR_L^1R_L^2)_b-$, $-CR_L^1=CR_L^2-$, Ethinylen oder $=CR_L^1$ bedeuten, wobei

a 0 oder 1,

b 0, 1 oder 2

30

X_L $CR_L^3R_L^4$, NR_L^5 , Sauerstoff oder Schwefel,

R_L^1 , R_L^2 , R_L^3 , R_L^4

unabhängig voneinander Wasserstoff, $-T$, $-OH$,

35

$-NR_L^6R_L^7$, $-CO-NH_2$, einen Halogenrest, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1-C_6 -Alkyl-, C_2-C_6 -Alkenyl-, C_2-C_6 -Alkinyl-, C_3-C_7 -Cycloalkyl-, $-CO-NH(C_1-C_6$ -Alkyl), $-CO-N(C_1-C_6$ -Alkyl) $_2$ oder C_1-C_4 -Alkoxyrest, einen gegebenenfalls substituierten Rest C_1-C_2 -Alkylen-T, C_2 -Alkenylen-T oder C_2 -Alkinylen-T, einen gegebenenfalls substituierten Aryl- oder Arylalkylrest oder jeweils unabhängig voneinander zwei Reste R_L^1 und R_L^2 oder R_L^3 und R_L^4 oder gegebenenfalls R_L^1 und R_L^3 zusammen einen,

40

gegebenenfalls substituierten 3 bis 7gliedrigen gesättigten oder ungesättigten Carbocyclus oder

45

152

Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann,

RL⁵, RL⁶, RL⁷

5 unabhängig voneinander Wasserstoff, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-, C₃-C₇-Cycloalkyl-, CO-O-C₁-C₆-Alkyl-, SO₂-C₁-C₆-Alkyl- oder CO-C₁-C₆-Alkylrest oder 10 einen, gegebenenfalls substituierten CO-O-Alkylen-Aryl-, SO₂-Aryl-, CO-Aryl-, SO₂-Alkylen-Aryl- oder CO-Alkylen-Arylrest,

bedeuten,

15 G ein Strukturelement der Formel I_G

20



wobei

25 der Einbau des Strukturelements G in beiden Orientierungen erfolgen kann und

30 X_G Stickstoff oder CR_G¹ für den Fall, daß Strukturelement G mit Strukturelement L oder B über X_G über eine Einfachbindung verbunden ist

oder

35 Kohlenstoff für den Fall, daß Strukturelement G mit Strukturelement L über X_G über eine Doppelbindung verbunden ist,

Y_G CO, CS, C=NR_G² oder CR_G³R_G⁴,

40 wobei

45 R_G¹ Wasserstoff, Halogen, eine Hydroxy-Gruppe oder einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl- oder C₁-C₄-Alkoxyrest,

153

5 R_G^2 Wasserstoff, eine Hydroxy-Gruppe, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1 - C_6 -Alkyl-, C_1 - C_4 -Alkoxy-, C_3 - C_7 -Cycloalkyl- oder $-O-C_3-C_7$ -Cycloalkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten Aryl-, $-O$ -Aryl, Arylalkyl- oder $-O$ -Alkylen-Arylrest und

10 R_G^3 , R_G^4 unabhängig voneinander Wasserstoff oder einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1 - C_6 -Alkyl-, C_2 - C_6 -Alkenyl-, C_2 - C_6 -Alkinyl- oder C_1 - C_4 -Alkoxyrest oder beide Reste R_G^3 und R_G^4 zusammen ein cyclisches Acetal $-O-CH_2-CH_2-O-$ oder $-O-CH_2-O-$ oder beide Reste R_G^3 und R_G^4 zusammen einen, gegebenenfalls substituierten C_3 - C_7 -Cycloalkylrest,

15 bedeuten,

20 R_G^5 , R_G^6 , R_G^7 , R_G^8

20 unabhängig voneinander Wasserstoff, eine Amino- oder Hydroxygruppe, einen Rest $HN-CO-R_G^9$, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1 - C_6 -Alkyl- oder C_1 - C_4 -Alkoxyrest, einen gegebenenfalls substituierten Aryl- oder Arylalkylrest oder unabhängig voneinander jeweils zwei Reste R_G^5 und R_G^6 oder R_G^7 und R_G^8 zusammen einen, gegebenenfalls substituierten, anelierten, ungesättigten oder aromatischen 3- bis 6-gliedrigen Carbocyclus oder Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann, und

30 R_G^9 einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1 - C_6 -Alkyl- oder C_1 - C_4 -Alkoxyrest oder einen gegebenenfalls substituierten Aryl-, Hetaryl-, Arylalkyl- oder Hetarylalkylrest

35 darstellen.

7. Arzneimittel enthaltend das Strukturelement der Formel I_{GL}

40

$-G-L$

I_{GL}

wobei G und L folgende B deutung haben:

45

L ein Strukturelement der Formel I_L

-U-T

I_L

5 wobei

T eine Gruppe COOH oder einen zu COOH hydrolysebaren Rest und

10 -U- -(X_L)_a-(CR_L¹R_L²)_b-, -CR_L¹=CR_L²-, Ethinylen oder =CR_L¹ bedeuten, wobei

a 0 oder 1,

15 b 0, 1 oder 2,

X_L CR_L³R_L⁴, NR_L⁵, Sauerstoff oder Schwefel,R_L¹, R_L², R_L³, R_L⁴20 unabhängig voneinander Wasserstoff, -T, -OH, -NR_L⁶R_L⁷, -CO-NH₂, einen Halogenrest, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-, C₂-C₆-Alkenyl-, C₂-C₆-Alkinyl-, C₃-C₇-Cycloalkyl-, -CO-NH(C₁-C₆-Alkyl), -CO-N(C₁-C₆-Alkyl)₂ oder C₁-C₄-Alkoxyrest, einen gegebenenfalls substituierten Rest C₁-C₂-Alkylen-T, C₂-Alkenylen-T oder C₂-Alkinylen-T, einen gegebenenfalls substituierten Aryl- oder Arylalkylrest oder jeweils unabhängig voneinander zwei Reste R_L¹ und R_L² oder R_L³ und R_L⁴ oder gegebenenfalls R_L¹ und R_L³ zusammen einen,

25 gegebenenfalls substituierten 3 bis 7gliedrigen gesättigten oder ungesättigten Carbocyclus oder Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann,

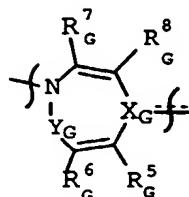
30 35 R_L⁵, R_L⁶, R_L⁷ unabhängig voneinander Wasserstoff, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-, C₃-C₇-Cycloalkyl-, CO-O-C₁-C₆-Alkyl-,40 SO₂-C₁-C₆-Alkyl- oder CO-C₁-C₆-Alkylrest oder einen, gegebenenfalls substituierten CO-O-Alkylen-Aryl-, SO₂-Aryl-, CO-Aryl-, SO₂-Alkylen-Aryl- oder CO-Alkylen-Arylrest,

45 bedeuten,

155

G ein Strukturelement der Formel I_G

5

I_G

wobei

10 der Einbau des Strukturelements G in beiden Orientierungen erfolgen kann und

15 X_G Stickstoff oder CR_G¹ für den Fall, daß Strukturelement G mit Strukturelement L oder B über X_G über eine Einfachbindung verbunden ist

oder

20 Kohlenstoff für den Fall, daß Strukturelement G mit Strukturelement L über X_G über eine Doppelbindung verbunden ist,

Y_G CO, CS, C=NR_G² oder CR_G³R_G⁴,

25 wobei

30 R_G¹ Wasserstoff, Halogen, eine Hydroxy-Gruppe oder einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl- oder C₁-C₄-Alkoxyrest,

35 R_G² Wasserstoff, eine Hydroxy-Gruppe, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-, C₁-C₄-Alkoxy-, C₃-C₇-Cycloalkyl- oder -O-C₃-C₇-Cycloalkylrest oder einen gegebenenfalls substituierten Aryl-, -O-Aryl, Arylalkyl- oder -O-Alkylen-Arylrest und

R_G³, R_G⁴

40 unabhängig voneinander Wasserstoff oder einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl-, C₂-C₆-Alkenyl-, C₂-C₆-Alkinyl- oder C₁-C₄-Alkoxyrest oder beide Reste R_G³ und R_G⁴ zusammen ein cyclisches Acetal -O-CH₂-CH₂-O- oder -O-CH₂-O- oder beide Reste R_G³ und R_G⁴ zusammen einen, gegebenenfalls substituierten C₃-C₇-Cycloalkylrest,

45 bedeuten,

$R_G^5, R_G^6, R_G^7, R_G^8$

unabhängig voneinander Wasserstoff, eine Amino- oder Hydroxygruppe, einen Rest $HN-CO-R_G^9$, einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten

5 C_1-C_6 -Alkyl- oder C_1-C_4 -Alkoxyrest, einen gegebenenfalls substituierten Aryl- oder Arylalkylrest oder unabhängig voneinander jeweils zwei Reste R_G^5 und R_G^6 oder R_G^7 und R_G^8 zusammen einen, gegebenenfalls substituierten, anelierten, ungesättigten oder aromatischen 3- bis 10 6-gliedrigen Carbocyclus oder Heterocyclus, der bis zu drei verschiedene oder gleiche Heteroatome O, N, S enthalten kann, und

15 R_G^9 einen verzweigten oder unverzweigten, gegebenenfalls substituierten C_1-C_6 -Alkyl- oder C_1-C_4 -Alkoxyrest oder einen gegebenenfalls substituierten Aryl-, Hetaryl-, Arylalkyl- oder Hetarylalkylrest

darstellen.

20

8. Arzneimittelzubereitungen zur peroralen und parenteralen Anwendung, enthaltend neben den üblichen Arzneimittelhilfsstoffen mindestens eine Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5.

25

9. Verwendung der Verbindungen gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Krankheiten.

30 10. Verwendung der Verbindungen gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5 als Integrin-Rezeptorliganden.

11. Verwendung der Verbindungen gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5 nach Anspruch 10 als Liganden des $\alpha_v\beta_3$ -Integrinrezeptors.

35

12. Verwendung der Verbindungen gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5 nach Anspruch 9 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Krankheiten, bei denen die Wechselwirkung zwischen Integrinen und ihren natürlichen Liganden überhöht ist.

40

13. Verwendung der Verbindungen gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5 nach Anspruch 12 zur Behandlung von Krankheiten, bei denen die Wechselwirkung zwischen $\alpha_v\beta_3$ -Integrin und seinen natürlichen Liganden überhöht ist.

45

157

14. Verwendung der Verbindungen gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5 nach Anspruch 13 zur Behandlung von Atherosklerose, Restenose nach Gefäßverletzung, Angioplastie, akutes Nierenversagen, Angiogenese-assoziierte Mikroangiopathien, arterielle Thrombose, Schlaganfall, Angiogenese, Tumorwachstum und -metastase, Krebs, Osteoporose, Bluthochdruck, Psoriasis oder viralen, parasitären oder bakteriellen Erkrankungen, Entzündungen, Hyperparathyroismus, Paget'scher Erkrankung, maligne Hypercalcemie oder metastatische osteolytische Läsionen.

15

20

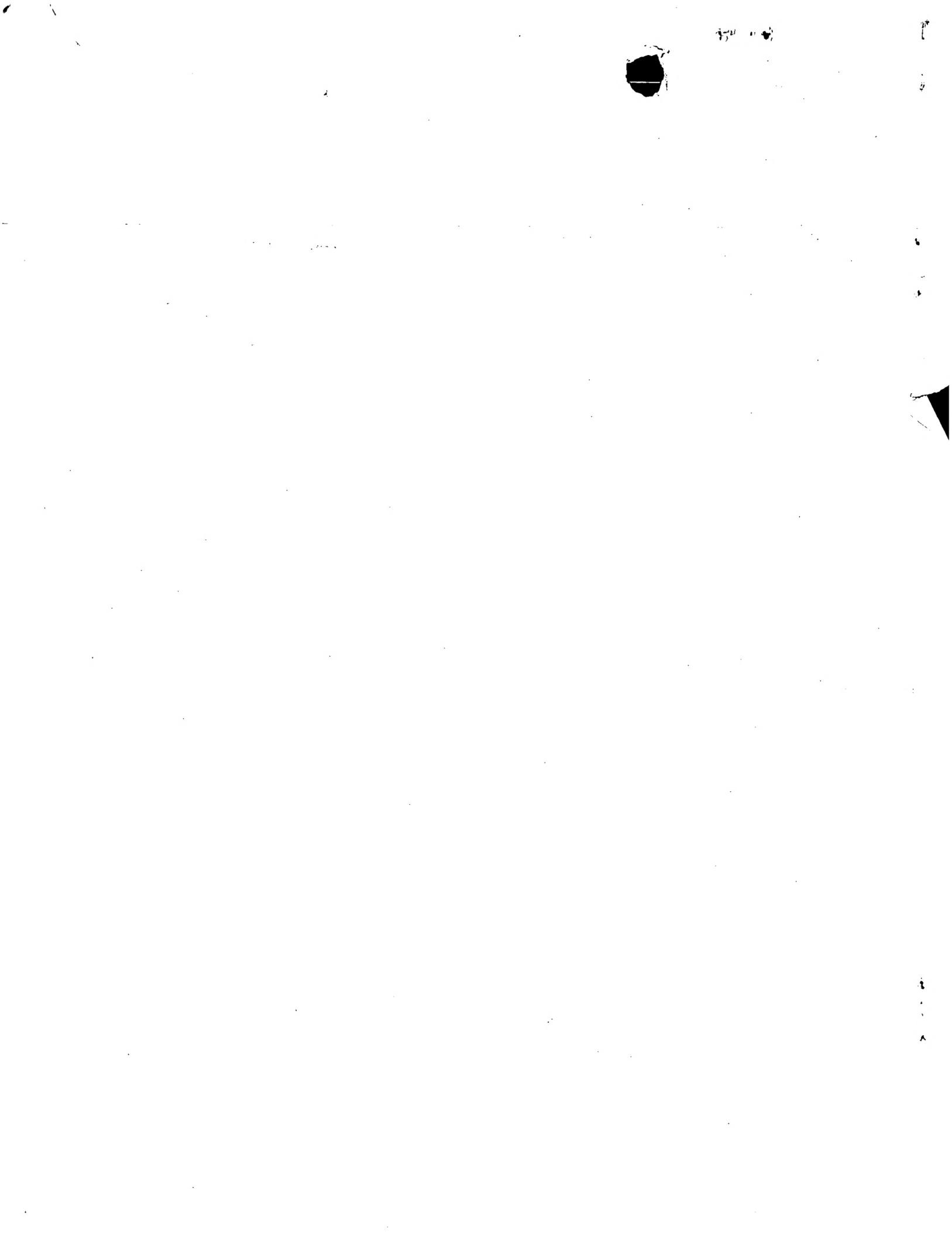
25

30

35

40

45



(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

BERICHTIGTE FASSUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
15. Februar 2001 (15.02.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/10847 A3(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C07D 401/12.
A61K 31/55, A61P 43/00, C07D 401/14, 213/73, 403/12,
491/04, 409/14, 223/20, 409/12, 417/12, 417/14, 495/04,
495/14 // (C07D 491/04, 233:00, 221:00) (C07D 495/04,
333:00, 223:00) (C07D 495/14, 333:00, 333:00, 223:00)7. D-67067 Ludwigshafen (DE). GRAEF, Claudia,
Isabella [DE/DE]; Tullastrasse 10, D-68161 Mannheim
(DE). SUBKOWSKI, Thomas [DE/DE]; Wichernstrasse
13, D-68526 Ladenburg (DE). HOLZENKAMP, Uta
[DE/DE]; St.-Georges-Str. 7. D-67245 Lambsheim
(DE). MACK, Helmut [DE/DE]; Neustadter Ring
80, D-67067 Ludwigshafen (DE). SADOWSKI, Jens
[DE/DE]; Mainstrasse 2, D-67117 Limburgerhof (DE).
HORNCER, Wilfried [DE/DE]; Goldener Winkel
14, D-67434 Neustadt (DE). LAUX, Volker [DE/DE];
St.-Sebastian-Str. 27, D-55128 Mainz (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/07440

(74) Anwalt: GRÜNECKER, KINKELDEY, STOCKMAIR
& SCHWANHÄUSSER ANWALTSSOZIETÄT: Maximilianstrasse 58, 80538 München (DE).(22) Internationales Anmeldedatum:
1. August 2000 (01.08.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU,
CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,
MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL,
TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

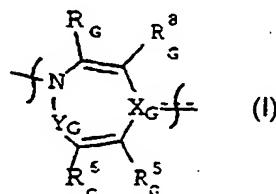
(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: NOVEL INTEGRIN RECEPTOR ANTAGONISTS

(54) Bezeichnung: NEUE ANTAGONISTEN VON INTEGRINREZEPTOREN



(57) **Abstract:** The invention relates to novel compounds of formula (I) which bind to integrin receptors, wherein G and L have the following meaning: L is a structural element of formula I_L, wherein T represents a COOH group or a radical that can be hydrolyzed to obtain COOH and U represents (X_L)_a-(CR_L¹R_L²)_b, -CR_L¹=CR_L²-, ethylene or =CR_L¹-, wherein a is 0 or 1; b is 0, 1 or 2; X_L represents CR_L³R_L⁴, NR_L⁵, oxygen or sulfur and G is a structural element of formula I_G, wherein the insertion of structural element G can occur in both orientations and X_G represents nitrogen or CR_G¹. The invention also relates to the production of said compounds and to their use as medicaments.

WO 01/10847 A3

(57) **Zusammenfassung:** Die Erfindung betrifft Verbindungen der Formel (I) B-G-L (I) wobei G und L folgende Bedeutung haben: L ein Strukturelement der Formel I_L -U-T (I_L) wobei T eine Gruppe COOH oder einem zu COOH hydrolysierbaren Rest und -U-(X_L)_a-(CR_L¹R_L²)_b, -CR_L¹=CR_L²-, Ethylen oder =CR_L¹- bedeuten, wobei a 0 oder 1, b 0, 1 oder 2 X_L, CR_L³R_L⁴, NR_L⁵, Sauerstoff oder Schwefel, G ein Strukturelement der Formel I_G (I_G) wobei der Einbau des Strukturelement G in beiden Orientierungen erfolgen kann und X_G Stickstoff oder CR_G¹, die an Integrinrezeptoren binden, deren Herstellung und deren Verwendung als Arzneimittel.



Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts:

1. November 2001

(48) Datum der Veröffentlichung dieser berichtigten Fassung:

6. Dezember 2001

(15) Informationen zur Berichtigung:

siehe PCT Gazette Nr. 49/2001 vom 6. Dezember 2001,
Section II

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
15. Februar 2001 (15.02.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/10847 A3(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **C07D 401/12**,
A61K 31/55, A61P 43/00, C07D 401/14, 213/73, 403/12,
491/04, 409/14, 223/20, 409/12, 417/12, 417/14, 495/04,
495/14[DE/DE]; St.-Georges-Str. 7, D-67245 Lambsheim
(DE). **MACK, Helmut** [DE/DE]; Neustadter Ring
80, D-67067 Ludwigshafen (DE). **SADOWSKI, Jens**
[DE/DE]; Mainstrasse 2, D-67117 Limburgerhof (DE).
HORNGER, Wilfried [DE/DE]; Goldener Winkel
14, D-67434 Neustadt (DE). **LAUX, Volker** [DE/DE];
St.-Sebastian-Str. 27, D-55128 Mainz (DE).(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/07440(22) Internationales Anmeldedatum:
1. August 2000 (01.08.2000)(74) Anwalt: **GRÜNECKER, KINKELDEY, STOCKMAIR & SCHWANHAÜSSER ANWALTSSOZIETÄT**; Maximilianstrasse 58, 80538 München (DE).

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

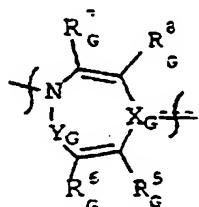
(30) Angaben zur Priorität:
199 36 780.9 9. August 1999 (09.08.1999) DEVeröffentlicht:
— mit internationalem Recherchenbericht(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **BASF AKTIENGESELLSCHAFT** [DE/DE]; D-67056 Ludwigshafen (DE).

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 1. November 2001

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: NOVEL INTEGRIN RECEPTOR ANTAGONISTS

(54) Bezeichnung: NEUE ANTAGONISTEN VON INTEGRINREZEPTOREN



(I)

(57) Abstract: The invention relates to novel compounds of formula (I) which bind to integrin receptors, wherein G and L have the following meaning: L is a structural element of formula I_L , wherein T represents a COOH group or a radical that can be hydrolyzed to obtain COOH and U- represents $(X_L)_a \cdot (CR_L^1 R_L^2)_b$, $-CR_L^1 = CR_L^2$, ethylene or $= CR_L^1$, wherein a is 0 or 1; b is 0, 1 or 2; X_L represents $CR_L^3 R_L^4$, NR_L^5 , oxygen or sulfur and G is a structural element of formula I_G , wherein the insertion of structural element G can occur in both orientations and X_G represents nitrogen or CR_G^1 . The invention also relates to the production of said compounds and to their use as medicaments.

WO 01/10847 A3

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft Verbindungen der Formel (I) B-G-L (I) wobei G und L folgende Bedeutung haben: L ein Strukturelement der Formel I_L -U-T (I_L) wobei T eine Gruppe COOH oder einem zu COOH hydrolysierbaren Rest und -U- $(X_L)_a \cdot (CR_L^1 R_L^2)_b$, $-CR_L^1 = CR_L^1 = CR_L^2$, Ethylen oder $= CR_L^1$ bedeuten, wobei a 0 oder 1, b 0, 1 oder 2 X_L $CR_L^3 R_L^4$, NR_L^5 , Sauerstoff oder Schwefel, G ein Strukturelement der Formel I_G (I_G) wobei der Einbau des Strukturelement G in beiden Orientierungen erfolgen kann und X_G Stickstoff oder CR_G^1 , die an Integrinrezeptoren binden, deren Herstellung und deren Verwendung als Arzneimittel.



Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/07440

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER					
IPC 7	C07D401/12	A61K31/55	A61P43/00	C07D401/14	C07D213/73
	C07D403/12	C07D491/04	C07D409/14	C07D223/20	C07D409/12
	C07D417/12	C07D417/14	C07D495/04	C07D495/14	

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07D A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 99 15508 A (SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION) 1 April 1999 (1999-04-01) cited in the application claims -----	1,8,10
A	WO 97 01540 A (SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION) 16 January 1997 (1997-01-16) cited in the application claims -----	1,8,10
A	WO 99 31099 A (MERCK & CO., INC.) 24 June 1999 (1999-06-24) claims -----	1,8,10

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

8 May 2001

21/05/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Van Bijlen, H

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l. Jonal Application No

PCT/EP 00/07440

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 // (C07D491/04, 233:00, 221:00), (C07D495/04, 333:00, 223:00),
(C07D495/14, 333:00, 333:00, 223:00)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

8 May 2001

Date of mailing of the international search report

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Van Bijlen, H

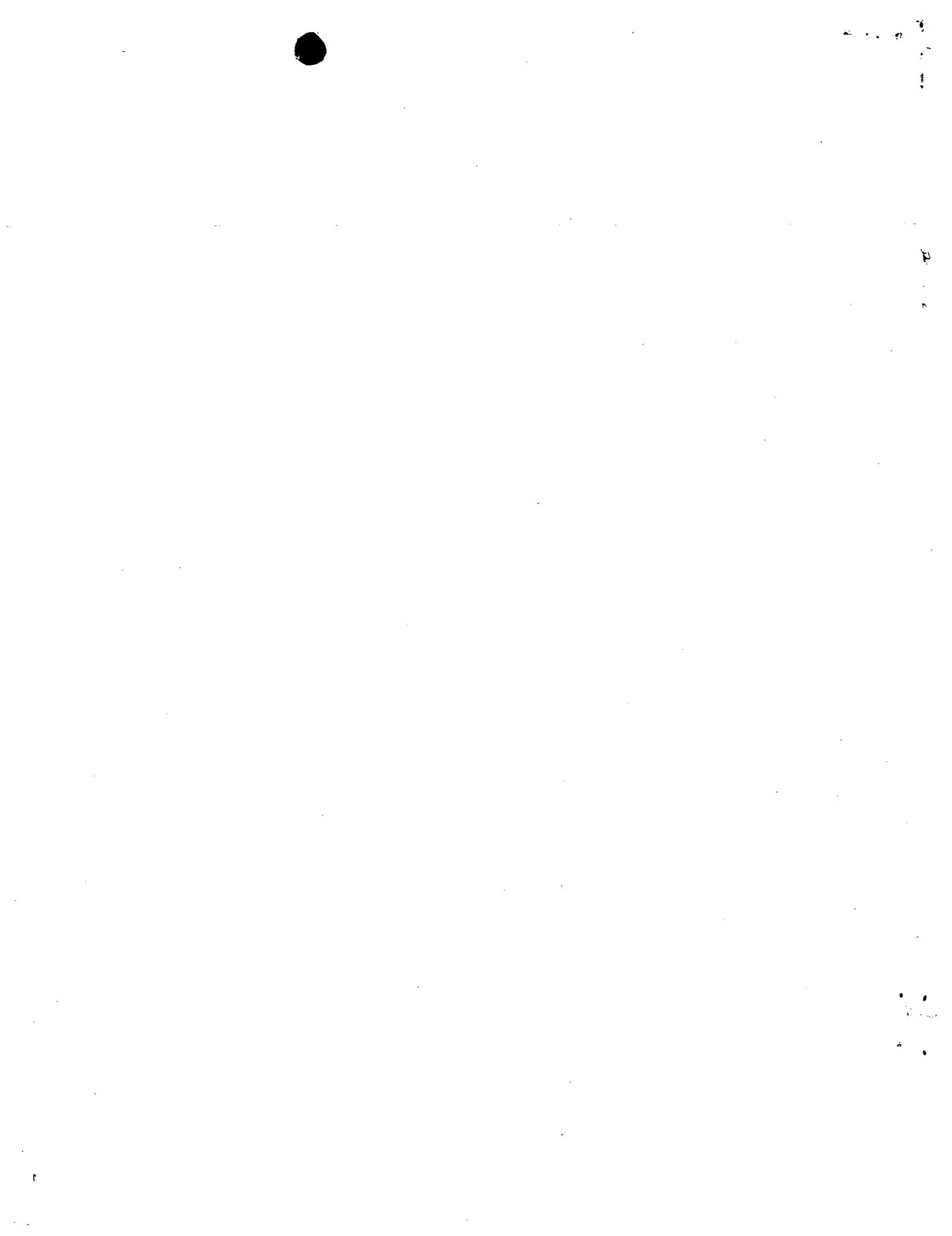
INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Int. Application No

PCT/EP 00/07440

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 9915508	A 01-04-1999	AU 9397298	A	12-04-1999
		BG 104314	A	31-01-2001
		CN 1278250	T	27-12-2000
		EP 1025090	A	09-08-2000
		NO 20001407	A	17-03-2000
		PL 339381	A	18-12-2000
		SK 4082000	A	12-09-2000
		ZA 9808562	A	19-03-1999
WO 9701540	A 16-01-1997	BR 9606200	A	03-11-1998
		CA 2192764	A	12-06-1998
		HU 9603432	A	28-09-1998
		NO 965607	A	29-06-1998
		NZ 299914	A	27-04-1998
		AU 7546196	A	25-06-1998
		CZ 9603679	A	12-08-1998
		EP 0910563	A	28-04-1999
		JP 11508887	T	03-08-1999
		US 6008213	A	28-12-1999
WO 9931099	A 24-06-1999	AU 1725799	A	05-07-1999
		AU 1914499	A	05-07-1999
		BG 104601	A	31-01-2001
		BR 9813574	A	10-10-2000
		CN 1284955	T	21-02-2001
		EP 1047425	A	02-11-2000
		EP 1040111	A	04-10-2000
		NO 20003113	A	16-08-2000
		WO 9930709	A	24-06-1999
		US 6066748	A	23-05-2000
		US 6017926	A	25-01-2000
		US 6066648	A	23-05-2000
		ZA 9811500	A	17-06-1999



Integrin $\alpha_v\beta_3$ Antagonists Promote Tumor Regression by Inducing Apoptosis of Angiogenic Blood Vessels

Peter C. Brooks,^{*†} Anthony M. P. Montgomery,^{*}
Mauricio Rosenthal,[†] Ralph A. Reisfeld,^{*}

Tianhua Hu,[‡] George Klier,[‡] and David A. Cheresh^{*†}

^{*}Departments of Immunology

[†]Department of Vascular Biology

[‡]Department of Cell Biology

The Scripps Research Institute

La Jolla, California 92037

Summary

A single intravascular injection of a cyclic peptide or monoclonal antibody antagonist of integrin $\alpha_v\beta_3$ disrupts ongoing angiogenesis on the chick chorioallantoic membrane (CAM). This leads to the rapid regression of histologically distinct human tumors transplanted onto the CAM. Induction of angiogenesis by a tumor or cytokine promotes vascular cell entry into the cell cycle and expression of integrin $\alpha_v\beta_3$. After angiogenesis is initiated, antagonists of this integrin induce apoptosis of the proliferative angiogenic vascular cells, leaving preexisting quiescent blood vessels unaffected. We demonstrate therefore that ligation of integrin $\alpha_v\beta_3$ is required for the survival and maturation of newly forming blood vessels, an event essential for the proliferation of tumors.

Introduction

Angiogenesis or neovascularization is critical for normal physiological processes such as embryonic development and wound repair (Folkman and Shing, 1992; D'Amore and Thompson, 1987). However, angiogenesis also facilitates tumor growth, retinopathy, and various inflammatory disorders (Blood and Zetter, 1990; Folkman, 1992; Weintraub-Saslow and Steeg, 1994). While it is clear that many cytokines and growth factors can induce angiogenesis, little is known about the mechanisms by which such factors promote this process at the molecular level. Angiogenic factors are hypothesized to directly impact vascular cell adhesion events, which are thought to play a significant role in angiogenesis (Dameron et al., 1994; Paku and Paveletz, 1991; Basson et al., 1992; Enenstein et al., 1992). In this regard, we recently identified the adhesion receptor integrin $\alpha_v\beta_3$ as a marker of angiogenic blood vessels in chick and man (Brooks et al., 1994). Significantly, topical application of a monoclonal antibody (MAb), LM609, directed to $\alpha_v\beta_3$ was able to suppress angiogenesis on the chick chorioallantoic membrane (CAM) (Brooks et al., 1994). These findings indicate that integrin $\alpha_v\beta_3$ has a critical role in angiogenesis.

Integrin $\alpha_v\beta_3$ is the most promiscuous member of the integrin family, allowing endothelial cells to interact with a wide variety of extracellular matrix (ECM) components (Cheresh, 1987, 1991; Cheresh et al., 1989a; Hynes, 1992; Leavesley et al., 1992). These adhesive interactions may

be critical for angiogenesis since vascular cells must ultimately be capable of invading virtually all tissues. While integrin $\alpha_v\beta_3$ promotes adhesive events important for angiogenesis, this receptor also transmits signals from the extracellular environment to the intracellular compartment (Leavesley et al., 1993). For example, ligation of this receptor on the surface of human endothelial cells promotes a calcium signal required for cell motility (Leavesley et al., 1993). In addition, integrin $\alpha_v\beta_3$ expressed on human melanoma cells promotes a survival signal protecting the cells from apoptosis in a three-dimensional collagenous environment (Montgomery et al., 1994). Although $\alpha_v\beta_3$ and other integrins have been linked to cell proliferation, motility, and survival in vitro (Felding-Habermann et al., 1992; Bianchini et al., 1992; Meredith et al., 1993; Schwartz, 1993; Montgomery et al., 1994), it is not known whether such integrin-dependent events occur *in vivo* and how they may influence a complex process such as angiogenesis.

In this report, we present evidence that antibody and peptide antagonists of integrin $\alpha_v\beta_3$ perturb angiogenesis on the CAM when introduced intravenously into the chick embryo. Significantly, this results in rapid growth arrest and regression of histologically distinct human tumors grown on the CAM. Evidence is presented here indicating that after angiogenesis has been initiated, antagonists of integrin $\alpha_v\beta_3$ inhibit this process by selectively promoting apoptosis of vascular cells. These findings are consistent with a role for integrin $\alpha_v\beta_3$ in a signaling event critical to the survival and ultimately differentiation of vascular cells undergoing angiogenesis *in vivo*.

Results

Intravascular Administration of $\alpha_v\beta_3$ Antagonists

Disrupt Tumor-Induced Angiogenesis

Integrin $\alpha_v\beta_3$ is preferentially expressed on angiogenic blood vessels in chick and man (Brooks et al., 1994; Enenstein and Kramer, 1994). We also reported that MAb LM609 directed to integrin $\alpha_v\beta_3$ inhibits angiogenesis when topically applied to proliferating blood vessels on the CAM of chick embryos, suggesting a role for this integrin in angiogenesis (Brooks et al., 1994). To examine this more directly, we tested the ability of a cyclic peptide or MAb antagonist of $\alpha_v\beta_3$ to disrupt angiogenesis when injected intravenously. Angiogenesis was initiated with 50-mg fragments of an $\alpha_v\beta_3$ -negative human melanoma tumor (M21-L). After 24 hr, the embryos received a single intravenous (IV) injection of the cyclic peptide 203 (RGDFV) or control peptide 601 (RADIV). The RGDFV peptide has been previously shown to preferentially inhibit ligand binding or cell-adhesion events mediated by $\alpha_v\beta_3$ (Aumailley et al., 1991; Pfaff et al., 1994; B. Diefenbach, M. R., and D. A. C., unpublished data). As shown in Figure 1A, 48 hr after IV administration, the active peptide disrupted tumor-induced angiogenesis (middle panels) yet had no effect on preexisting adjacent vessels within these same CAMs (right panels). Identical results were observed with IV injection of the

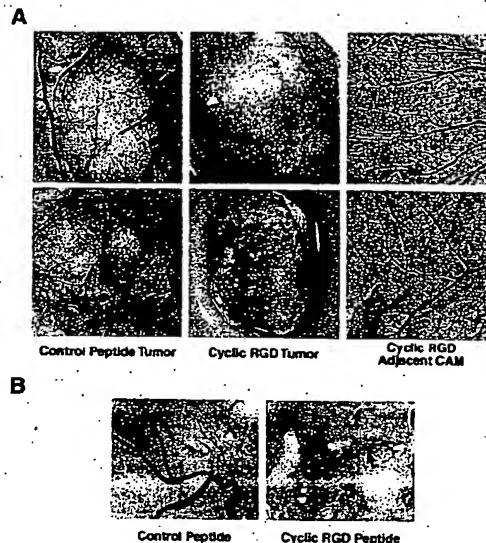


Figure 1. IV Administration of α, β_3 Antagonists Inhibit Tumor-Induced Angiogenesis

Human M21-L melanoma tumor fragments (50 mg) were implanted on the CAMs of 10-day-old embryos. After 24 hr, embryos received a single IV injection of 300 μ g/100 μ l of either control peptide or cyclic RGD peptide. After a total of 72 hr, tumors were removed, analyzed, and photographed with a stereo microscope.

(A) Control cyclic RAD peptide (601), left panels; cyclic RGD peptides (203), middle panels; adjacent CAM tissue taken from the same embryos treated with cyclic RGD peptides (203), right panels.

(B) High magnification (4.33 \times) of peptide-treated tumors. The left panel represents normal vessels from control-treated tumors, and the right panel represents examples of disrupted blood vessels from LM609-treated tumors (arrows).

anti- α, β_3 MAb LM609 (data not shown). In contrast, control cyclic peptide 601 had no effect on tumor-induced angiogenesis (Figure 1A) compared with tumor-bearing embryos injected with phosphate-buffered saline (PBS) (data not shown). Examination of tumors treated with the active peptide revealed that angiogenesis had been stimulated; however, the few vessels remaining appeared disrupted and discontinuous (Figure 1B, arrows).

Inhibition of Tumor-Induced Angiogenesis by Antagonists of Integrin α, β_3 Promote Regression of Human Tumors In Vivo

To assess the effects of α, β_3 antagonists on tumor growth and survival, fragments of human melanoma or carcinomas of the lung, pancreas, and larynx were placed on CAMs of 10-day-old embryos. After 24 hr, embryos were intravenously injected with PBS alone or with a single dose of either MAb LM609 (anti- α, β_3) or CSAT (anti- β_1), and tumors were allowed to propagate for an additional 6 days. As shown in Figure 2, tumors treated with PBS or CSAT proliferated in all cases. In contrast, MAb LM609 not only prevented the growth of these tumors, but induced extensive regression in most cases. Importantly, these tumors fail to express integrin α, β_3 (data not shown), suggesting

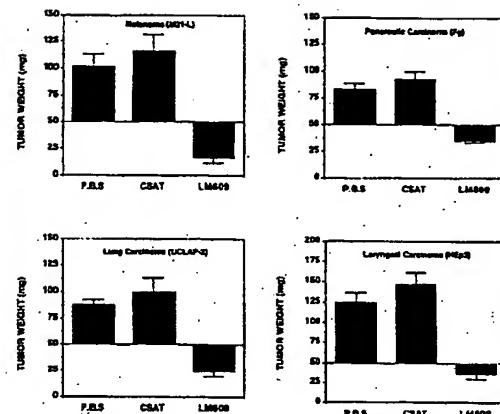


Figure 2. Inhibition of Tumor Growth by Antagonists of α, β_3 Integrin Fragments (50 mg) of human tumors, all α, β_3 negative, were implanted on the CAMs of 10-day-old chick embryos. After 24 hr, embryos received IV injections of 300 μ g/100 μ l of purified MAb CSAT (anti- β_1), LM609 (anti- α, β_3), or control PBS. At the end of 7 days, tumors were resected and trimmed free of surrounding CAM tissue, and weights were determined. Each bar represents the mean \pm SEM of 5–10 tumors per group. MAb LM609 inhibited tumor growth significantly ($p < 0.001$) as compared with tumors from control embryos.

that the inhibition of growth was due to the antiangiogenic effects of this antibody.

Representative examples of M21-L tumors treated with MAbs P3G2 (anti- α, β_3) or LM609 are depicted in Figure 3A. The P3G2-treated tumors were large (8 mm in diameter) and well vascularized, whereas those treated with MAb LM609 were much smaller (3 mm in diameter) and lacked detectable blood vessels. To examine these tumors further, histological sections were prepared and stained with hematoxylin and eosin. As shown in Figure 3B (upper panel), tumors treated with control antibody showed numerous viable and actively dividing tumor cells as indicated by mitotic figures (arrowheads) as well as multiple blood vessels (arrows) throughout the tumor stroma. In contrast, few if any viable tumor cells or blood vessels were detected in tumors treated with MAb LM609 (Figure 3B, lower panel). These results demonstrate that antagonists of integrin α, β_3 inhibit tumor-induced angiogenesis, leading to the growth arrest and regression of a variety of human tumors *in vivo*. It is important to point out that embryos examined after seven days of tumor growth (embryonic day 17) appeared normal upon gross examination whether or not they were treated with an α, β_3 antagonist (data not shown). These findings indicate that antagonists of this integrin appear to be nontoxic.

Antagonists of Integrin α, β_3 Selectively Promote Apoptosis of Angiogenic Blood Vessels

Integrin ligation events have been shown to participate in both cell proliferation as well as apoptosis or programmed cell death *in vitro* (Schwartz, 1993; Meredith et al., 1993; Frisch and Francis, 1994; Ruoslahti and Reed, 1994; Montgomery et al., 1994). Close examination of the effects

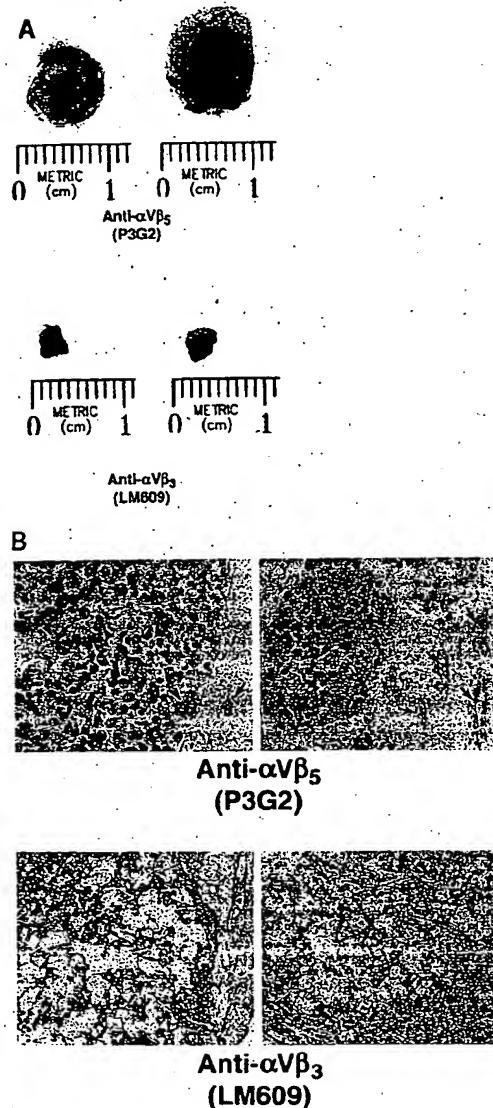


Figure 3. Effects of Antagonists of α,β_3 Integrin on Human Melanoma Growth

Ten-day-old embryos were implanted with 50-mg fragments of α,β_3 -negative human melanoma tumor M21-L, as in Figure 2. After 24 hr, embryos were inoculated with 300 μ g of either MAb P3G2 (anti- α,β_3) or LM609 (anti- α,β_3). At the end of 7 days of growth, tumors were resected and trimmed free of surrounding CAM tissue, and they were microscopically photographed at a magnification of 99 \times (A) and 180 \times (B).

(A) The top panel shows M21-L tumors from embryos treated with anti- α,β_3 MAb P3G2, and the bottom panel shows those treated with anti- α,β_3 MAb LM609.

(B) Sections of these M21-L tumors 6 μ m wide were stained with hematoxylin and eosin. The top panel shows M21-L tumors from embryos treated with MAb P3G2 (anti- α,β_3). The bottom panel shows M21-L tumors from embryos treated with MAb LM609 (anti- α,β_3). Arrowheads indicate tumor cells with mitotic figures; arrows indicate tumor-associated blood vessels.

of α,β_3 antagonists on angiogenesis reveals the presence of discontinuous and disrupted tumor-associated blood vessels (see Figure 1B, right panels). Therefore, it is possible that the loss of blood vessel continuity may be due to selective necrosis or apoptosis of vascular cells. To explore this possibility, we examined CAMs after induction of angiogenesis and treatment with MAb LM609 for the presence of apoptotic cells. Angiogenesis was induced by placing filter disks saturated with basic fibroblast growth factor (bFGF) on the CAMs of 10-day-old chick embryos. Immunohistological analysis reveals peak expression of α,β_3 on blood vessels 12–24 hr after initiation of angiogenesis with bFGF (S. Strömbäck and D. A. C., unpublished data). Thus, 24 hr after stimulation with bFGF, embryos were inoculated intravenously with 100 μ l of PBS alone or with PBS containing 300 μ g of either MAb CSAT (anti- β_1) or LM609 (anti- α,β_3). DNA isolated from CAMs resected either 1 or 2 days after antibody treatment was analyzed for oligonucleosomal fragmentation, a hallmark of apoptotic cells. As shown in Figure 4A, no difference was detected in the relative amount of DNA fragmentation 1 day after antibody treatment. However, by day 2 following treatment with MAb LM609, a significant increase in DNA fragmentation was observed when compared with embryos treated with either MAb CSAT or PBS alone. To verify and quantitate these results, CAMs isolated from embryos treated as above were dissociated into single cell suspensions by incubation with bacterial collagenase. Cells were then permeabilized and stained with Apop Tag, an antibody that specifically detects free 3' OH groups of fragmented DNA. Detection of such free 3' OH groups is an established method for detecting apoptotic cells (Gavrieli et al., 1992). Stained cells were then analyzed by fluorescence-activated cell sorting (FACS). As shown in Figure 4B, CAMs treated 2 days prior with MAb LM609 or peptide 203 (RGDFV) showed a 3- to 4-fold increase in Apop Tag staining as compared with CAMs treated with either PBS alone, CSAT, or control cyclic peptide 601. Samples of these same cells, stained with the DNA dye propidium iodide, revealed that 25%–30% of the LM609-treated CAM cells from day 2 posttreatment showed evidence of nuclear condensation, segmentation, or both, which are processes characteristic of cells undergoing apoptosis. This is in contrast with CAMs treated with CSAT, of which 90%–95% of the cells showed normal nuclear staining (data not shown). Taken together, these findings indicate that IV injection of MAb LM609 or cyclic peptide antagonist of α,β_3 promote apoptosis within the chick CAM following induction of angiogenesis.

Antagonists of Integrin α,β_3 Selectively Promote Apoptosis of Vascular Cells

To identify those cells within CAMs undergoing apoptosis in response to α,β_3 antagonists, cryostat sections prepared from CAMs treated 2 days prior with CSAT or LM609 were examined for Apop Tag immunoreactivity. As shown in Figures 5A–5C, after IV injection of CSAT or PBS control (data not shown), staining with Apop Tag appeared minimal and random, indicating a minimal level of apoptosis within the tissue. In contrast, CAMs from embryos pre-

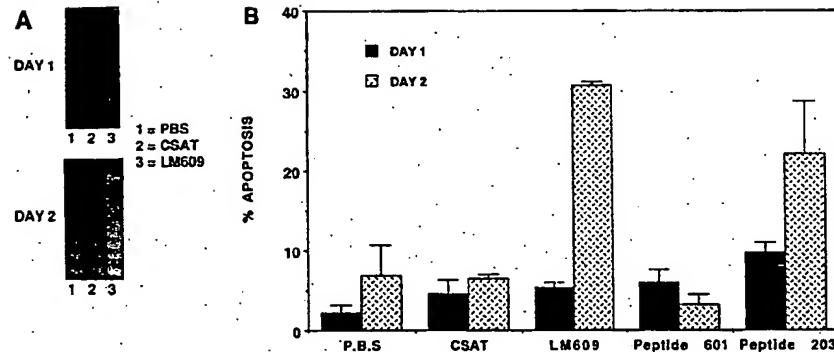


Figure 4. Detection of Fragmented DNA in Chick CAMs

Angiogenesis was induced on 10-day-old CAMs with bFGF and treated with MAbs or cyclic peptides, as described in Figures 1 and 2. (A) Soluble fragmented DNA from an equal number of CAM cells were analyzed on a 1.2% agarose gel, as described in Experimental Procedures. Lane 1 contains PBS-treated CAMs; lane 2 contains CSAT-treated (anti- β_1 -treated) CAMs; and lane 3 contains LM609-treated (anti- $\alpha_1\beta_3$ -treated) CAMs.

(B) CAMs treated as above were digested with collagenase, and single cells were stained with Apop Tag, as described in Experimental Procedures. The percent of cells staining with Apop Tag from MAb or peptide-treated CAMs was determined by FACS analysis. The closed bars represent cells from embryos treated 24 hr prior; the stippled bars represent cells from embryos treated 48 hr prior. Each bar represents the mean \pm SEM of three replicates.

viously treated with LM609 or cyclic peptide 203 (data not shown) showed a majority of the vessels staining intensely with Apop Tag, while minimal reactivity was observed among surrounding nonvascular cells (Figures 5D–5F). Furthermore, when both Apop Tag and LM609 were used to stain these tissues (Figures 5C and 5F), significant colocalization was only observed between these markers in CAMs derived from embryos treated with $\alpha_1\beta_3$ antagonists (Figure 5F). These findings demonstrate that after induction of angiogenesis *in vivo*, inhibitors of integrin $\alpha_1\beta_3$ selectively promote apoptosis of $\alpha_1\beta_3$ -bearing blood vessels.

Vascular Cells Stimulated to Enter the Cell Cycle Undergo Apoptosis in the Presence of Antagonists of Integrin $\alpha_1\beta_3$

The angiogenic process clearly depends on the capacity of cytokines such as bFGF and vascular endothelial growth factor to stimulate vascular cell proliferation (Mignatti and Rifkin, 1991; Takeshita et al., 1994; Koyama et al., 1994). However, it is also apparent that signaling events may regulate the differentiation of these vascular cells into mature blood vessels. Thus, it is conceivable that interfering with signals related to either growth or differentiation of vascular cells may result in the perturbation of angiogenesis. To experimentally examine the role of $\alpha_1\beta_3$ in these processes, cells derived from CAMs treated with or without bFGF were stained with both propidium iodide and MAb LM609. Among those cells in the bFGF-stimulated CAMs that had entered the cell cycle (S and G2/M phase), 70% showed positive staining with LM609 (data not shown). This is compared with 10% LM609 staining observed among cycling cells from non-bFGF-treated CAMs. These findings indicate that after bFGF stimulation, the majority of the $\alpha_1\beta_3$ -bearing cells show active proliferation. Therefore, we examined the cell cycle profile (DNA content) of those vascular cells induced to undergo angiogenesis in

the presence or absence of $\alpha_1\beta_3$ antagonists. In this case, cells isolated from these CAMs were stained with both propidium iodide and Apop Tag. As shown in Figure 6, consistent with the induction of apoptosis by LM609, we observed a significant number of cells in a peak containing less than one copy of DNA (A0). This peak has been previously shown to represent fragmented DNA in late-stage apoptotic cells (Telford et al., 1992). Furthermore, these A0 cells readily stain with Apop Tag, confirming the ability of this reagent to detect apoptotic cells. However, in addition to the staining of cells in A0, a significant number of cells containing greater than one copy of DNA also stained with Apop Tag (Figure 6). These results demonstrate that LM609 has the ability to promote apoptosis among vascular cells that had already entered the cell cycle. In contrast, cells derived from control CAMs that had entered the cell cycle showed minimal Apop Tag staining, consistent with the few apoptotic cells detected in control-treated CAMs shown in Figures 4 and 5.

Discussion

The growth and metastatic properties of solid tumors are directly influenced by the process of angiogenesis. Primary tumor growth depends on nutrients supplied by blood vessel infiltration while these same vessels will also serve as a conduit for invasive cells and thereby hasten the metastatic process. In this regard, recent studies demonstrate that the number of blood vessels infiltrating primary breast or prostate tumors provides a prognostic indication of the disease status (Weidner et al., 1992, 1993). Significantly, agents that perturb angiogenesis can lead to a reduction in the growth of tumors in experimental animals (Fotsis et al., 1994; Ingber et al., 1990). Many angiogenic inhibitors have been directed toward blocking initial cytokine-dependent induction of new vessel growth. However, these ap-

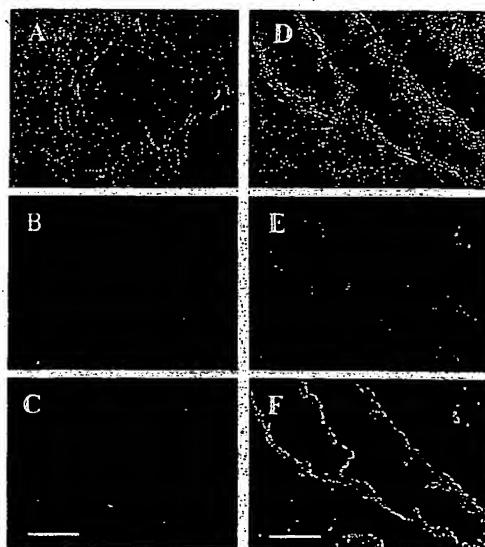


Figure 5. Colocalization of Apoptosis Among α, β -Bearing Blood Vessels

Cryostat sections, 6 μm in width, of bFGF-induced CAMs treated with α, β -antagonists or controls were analyzed by confocal immunofluorescence analysis, as described in Experimental Procedures.

CAM tissue from CSAT-treated embryos (A-C); CAM tissue from LM609-treated embryos (D-F). (A) and (D) represent tissues stained with Apop Tag and visualized by fluorescence (FITC) superimposed on a DIC image. (B) and (E) represent these tissues stained with Mab LM609 and visualized by fluorescence (rhodamine). (C) and (F) represent merged images of these same tissues stained with both Apop Tag and LM609, in which yellow staining represents colocalization. Bar represents 25 μm and 50 μm in the left and right panels, respectively.

proaches are problematic owing to the fact that tumors and inflammatory cells can secrete multiple activators of angiogenesis. Therefore, our findings that α, β -antagonists inhibit angiogenesis induced by tumors of distinct histological origin indicate a potentially powerful antiangiogenic therapeutic approach. This is underscored by the observation that α, β -antagonists not only prevent the growth of these tumors but actually induce their regression.

We previously identified the integrin α, β as a marker of angiogenic vascular cells in human wounds and in the chick CAM (Brooks et al., 1994). It was also apparent that this integrin was fundamentally involved in angiogenesis since topical application of anti- α, β , MAb LM609, prevented the growth of new blood vessels on the CAM in response to cytokines or a human tumor fragment (Brooks et al., 1994). In this report, we characterize the mechanism of angiogenesis inhibition by peptide or antibody antagonists of integrin α, β . Our results demonstrate that antagonists of integrin α, β selectively promote apoptosis of vascular cells that have been stimulated to undergo angiogenesis.

Cell-adhesive interactions undoubtedly play a role in tissue remodeling during wound repair and embryonic development. *In vitro*, cell-ECM interactions have been linked

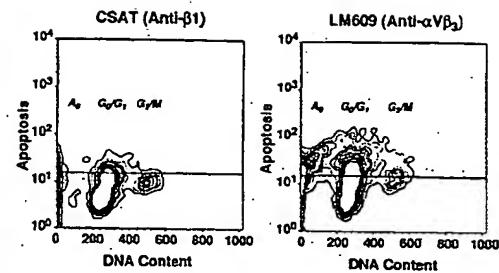


Figure 6. Cell Cycle Analysis and Apoptosis in Cells Derived from CAMs Treated with α, β Antagonists

Single-cell suspensions of bFGF-induced CAMs from embryos treated with either CSAT (anti- β) or LM609 (anti- α, β) were stained with Apop Tag and propidium iodide, and DNA content per cell was analyzed by FACS, as described in Experimental Procedures. The Y-axis represents Apop Tag staining (apoptosis), and the X-axis represents propidium iodide staining (DNA content). The horizontal line represents the negative gate for Apop Tag staining. The left panel represents CAM cells from CSAT-treated embryos, and the right panel represents CAM cells from LM609-treated embryos. Cell cycle analysis was performed by analysis of approximately 8000 events per condition, and data are represented in a contour plot.

to the induction of cell proliferation, motility, gene expression, differentiation, and programmed cell death (or apoptosis) (Ruoslahti and Reed, 1994; Ingber, 1991; Lin and Bissell, 1993; Meredith et al., 1993). It is well known that cells express multiple integrins that, in turn, recognize a wide variety of ligands present within the ECM. As a consequence, little is known regarding how a given integrin-mediated adhesive event might impact a complex biological process such as angiogenesis. In this study, we provide direct evidence that a given integrin can regulate the survival of vascular endothelial cells *in vivo*. The singular importance of α, β in angiogenesis is evident since CSAT, a function blocking MAb directed to β integrins and P3G2 directed to integrin α, β , had no effect on this process.

Previous reports indicate that endothelial cell proliferation and differentiation can be regulated by cell-adhesive interaction. Specifically, it was shown that capillary endothelial cells deprived of mechanochemical signals from the ECM round up and die, whereas increased ECM-cell adhesion mediated by integrins resulted in differentiation of endothelial cells into capillary-like tubes (Ingber and Folkman, 1989; Ingber et al., 1986). Our results indicate that integrin α, β provides a specific transmembrane signal that potentiates the survival of angiogenic vascular cells *in vivo*. In fact, recent studies have shown that ligation of α, β on human endothelial cells *in vitro* promotes a rise in intracellular pH and calcium (Leavesley et al., 1993). Integrin signaling events also include the activation of non-receptor tyrosine kinases such as focal adhesion kinase (Kornberg et al., 1992; Defilippi et al., 1994) and the polymerization of the actin cytoskeleton (Sastri and Horwitz, 1993), which in turn regulate cellular shape and motility of cells on the ECM (Romer et al., 1994). We hypothesize that such signaling events, triggered by integrin α, β , may play a fundamental role in mediating the survival of vascular cells undergoing angiogenesis.

While angiogenesis is a complex process involving many molecular and cell biological events, several lines of evidence suggest that vascular cell integrin $\alpha_5\beta_1$ plays a relatively late role in this process. First, immunohistochemical analysis revealed that expression of $\alpha_5\beta_1$ on vascular cells reached a maximum 12–24 hr after the induction of angiogenesis with bFGF (S. Strömbäck and D. A. C., unpublished data). Secondly, antagonists of $\alpha_5\beta_1$ perturb angiogenesis induced by multiple activators, suggesting that this receptor is involved in a common pathway downstream from perhaps all primary signaling events leading to angiogenesis. Thirdly, MAb LM609 or cyclic peptide-treated CAMs did not show a significant increase in apoptosis as measured by DNA laddering until 48 hr post-treatment with these antagonists. Finally, antagonists of $\alpha_5\beta_1$ promote apoptosis of vascular cells that have already been induced to enter the cell cycle.

The results presented in this report provide the first direct evidence that integrin ligation events can regulate cell survival *in vivo*. We hypothesize that once angiogenesis begins, individual vascular cells divide and begin to move toward the angiogenic source; after this time, $\alpha_5\beta_1$ ligation provides a signal allowing continued cell survival, which leads to differentiation and the formation of mature blood vessels. However, if $\alpha_5\beta_1$ ligation is prevented, then the cells fail to receive this molecular cue, and the cells go into apoptosis by default. This hypothesis would also predict that after differentiation has occurred, mature blood vessels no longer require $\alpha_5\beta_1$ signaling for survival and, thus, are refractory to antagonists of this integrin.

Finally, our results provide evidence that antagonists of integrin $\alpha_5\beta_1$ may provide a powerful therapeutic approach for the treatment of neoplasia or other diseases characterized by angiogenesis. First, antagonists of $\alpha_5\beta_1$ disrupt newly forming blood vessels without affecting the preexisting vasculature. Second, these antagonists had no significant effect on chick embryo viability, suggesting they are nontoxic. Third, angiogenesis was significantly blocked regardless of the angiogenic stimuli. Finally, systemic administration of $\alpha_5\beta_1$ antagonists causes dramatic regression of various histologically distinct human tumors.

Experimental Procedures

Cell Lines and Tissue Culture

The M21-L human melanoma cell line was a variant selected for lack of α_5 integrin mRNA expression (Cheresh and Spiro, 1987). The UCLA-P3 human lung carcinoma cell line was obtained from Dr. D. Morton (Department of Surgery [University of California, Los Angeles]). The FG human pancreatic carcinoma was a cell line that failed to express β_1 integrin subunit (Cheresh et al., 1989b). The HEp3 human epidermoid carcinoma cell line was obtained from Dr. J. P. Quigley (Department of Pathology [State University of New York, Stony Brook]) and was determined to be negative for $\alpha_5\beta_1$ expression by ELISA (data not shown). Cells were grown in either RRMI 1640 or DMEM containing 10% fetal bovine serum and 50 μ g/ml gentamicin.

Antibodies, Reagents, and Chemicals

MAbs LM609 (anti- $\alpha_5\beta_1$) and P3G2 (anti- $\alpha_5\beta_1$) have been described previously (Cheresh, 1987; Wayner et al., 1991). MAb CSAT (anti- β_1) was obtained from Dr. C. Buck (Wistar Institute, Pennsylvania). Cyclic RGD peptides 66203 (cyclo-RGDIV) and 69601 (cyclo-RADIV) were synthesized and characterized by Drs. A. Jonczyk, B. Diefenbach, and S. Goodman (E. Merck [Darmstadt, Federal Republic of Germany]).

Bacterial collagenase was obtained from Worthington Biochemical (Freehold, New Jersey). Phycoerythrin- and rhodamine-labeled secondary antibodies were obtained from Fisher Scientific (Pittsburgh, Pennsylvania). The Apop Tag Apoptosis In Situ Detection Kit was obtained from Oncor (Gaithersburg, Maryland).

Tumor Culture on the Chick CAM

Ten-day-old chick embryos were purchased from McIntyre Poultry (Lakeside, California) and were incubated at 37°C with 60% humidity. A small hole was made through the shell at the end of the egg directly over the air sac with the use of a small crafts drill (Dremel, Division of Emerson Electric Company [Racine, Wisconsin]). A second hole was drilled on the broad side of the egg directly over embryonic blood vessels, as determined previously by candling. Negative pressure was applied to the original hole, which resulted in the CAM pulling away from the shell membrane and creating a false air sac. A 1.0 cm \times 1.0 cm square window was cut through the shell over the dropped CAM with the use of a small model grinding wheel (Dremel) to create a window that allowed direct access to the underlying CAM.

M21-L, UCLA-P3, FG, or HEp3 cells, all $\alpha_5\beta_1$ negative, were used to grow solid human tumors on the CAMs of 10-day-old chick embryos. Single-cell suspensions of 8×10^6 M21-L, UCLA-P3, and FG cells or 5×10^6 HEp3 cells were applied to the CAMs in a total volume of 30 μ l of sterile HBSS (GIBCO [Grand Island, New York]). The windows were sealed with tape, and the embryos were incubated for 7 days to allow growth of human tumor lesions. At the end of 7 days, the tumors were resected and trimmed free of surrounding CAM tissue. The tumors were then sliced into fragments of approximately 50 mg for use in either angiogenesis or tumor growth assays. Tumors grown *in vivo* on the chick embryo CAMs were stained for $\alpha_5\beta_1$ expression with MAb LM609, and no specific staining of tumor cells was observed, indicating a lack of $\alpha_5\beta_1$ expression (data not shown).

Tumor-Induced Angiogenesis Assay

Angiogenesis was induced in the chick embryo by implanting 50-mg fragments of human tumor (M21-L) on the CAMs of 10-day-old embryos. After 24 hr, the embryos received IV inoculations of 300 μ g of antagonists of $\alpha_5\beta_1$ integrin, including MAb LM609 (anti- $\alpha_5\beta_1$) or cyclic RGD peptides 203. Control embryos received inoculations of 300 μ g of MAbs CSAT (anti- β_1), P3G2 (anti- $\alpha_5\beta_1$), or control cyclic RAD peptide 601. At the end of the 3-day incubation period, tumors were resected and analyzed for angiogenesis with a SV-11 stereo microscope (Olympus [Lake Success, New York]). CAM tissue adjacent to tumors from embryos treated with an antagonist of $\alpha_5\beta_1$ were also analyzed. Photographs were taken at 10 \times magnification.

Tumor Growth Assay

The 7-day tumor growth assay was performed essentially as the angiogenesis assay described previously, with some modifications. Fragments (50 mg) of $\alpha_5\beta_1$ -negative human melanoma M21-L, pancreatic carcinoma FG, human lung carcinoma UCLA-P3, or human laryngeal carcinoma HEp3 were implanted on the CAM as described above. After 24 hr, chick embryos were inoculated intravenously with 300 μ g of either MAbs or cyclic peptides and were allowed to incubate for 7 days. At the end of the incubation period, the tumors were carefully resected and trimmed free of surrounding CAM tissue. Tumor resections were performed by two independent investigators removing only the easily definable solid tumor mass. The tumors had well-defined margins; thus, the thin semitransparent membrane (CAM), which is readily distinguishable from the solid tumor mass, was removed without disturbing the tumor mass itself. Wet tumor weights at the end of 7 days were determined and compared with initial tumor weights before treatments.

Immunohistochemical Analysis of Tumors

Histological analysis of human tumors treated with antagonists of $\alpha_5\beta_1$ integrin or controls was performed as described. In brief, tumors from 7-day growth assays were fixed in Bouin's fixative for 8 hr and were embedded in paraffin. Sections 6 μ m in width were cut and stained with hematoxylin and eosin for microscopic analysis (Gladson and Cheresh, 1991). Sections were photographed with an Olympus compound microscope at 250 \times .

ncial
sec-
irgh.
was

ultry
dity.
ctly
sion
hole
lood
was
way
1 x
ped
late

sed
os.
or
'30
ws
to
ors
tu-
ise
ivo
Ab
ng

ig
n-
ol
ic
ig
le
d
r
n
r

Detection of DNA Fragmentation

CAM tissue directly below bFGF-saturated filter disks were resected 24 hr or 48 hr after IV inoculations with antagonists of α , β , or controls. Tissues were washed three times with sterile PBS and were finely minced, resuspended in 0.25% bacterial collagenase (Worthington Biochemical [Freehold, New Jersey]), and incubated for 90 min at 37°C with occasional vortexing. DNA was extracted from equal numbers of CAM cells from single-cell suspensions. DNA extractions were performed as previously described (Bissonnette et al., 1992). In brief, equal numbers of CAM cells were lysed in 10 mM Tris (pH 8.0) and 10 mM EDTA in 0.5% Triton X-100 (Sigma [St. Louis, Missouri]). Lyses were centrifuged at 16,000 \times g for 15 min at 4°C to separate soluble fragmented DNA from the intact chromatin pellet. Fragmented DNA was washed, precipitated, and analyzed on a 1.2% agarose gel.

Flow Cytometric Analysis

Single-cell suspensions of CAMs treated 24 hr or 48 hr prior with antagonists of α , β , or controls were prepared as described above. Cell suspensions were washed three times with buffer containing 2.5% BSA and 0.25% sodium azide in PBS. Cells were then fixed in 1% paraformaldehyde in PBS for 15 min, followed by the washes (carried out three times) as described above. To prevent nonspecific binding, single-cell suspensions were blocked with 5.0% BSA in PBS overnight at 4°C. Next, cells were washed as before and stained with an Apop Tag In Situ Detection Kit according to the instructions of the manufacturer (Oncor).

Cell fluorescence was measured with a FACScan flow cytometer (Becton-Dickinson [Mountain View, California]). Side scatter and forward scatter were determined simultaneously, and all data were collected with a Hewlett Packard (HP9000) computer equipped with FACScan research software (Becton-Dickinson). The data were analyzed with PC Lysis version I software (Becton-Dickinson). Negative control gates were set by using cell suspensions without primary antibodies.

Morphological Analysis of CAM Cells

Single-cell suspensions of CAM cells treated 48 hr prior with antagonists of α , β , or controls were prepared as described above. Cells were stained with propidium iodide (Sigma) at 10 μ g/ml in PBS for 1 hr. Cells were washed two times with PBS and were analyzed with a Zeiss compound microscope fitted with epifluorescence. Cells from each experimental condition were analyzed for nuclear characteristics typical of apoptosis, including chromatin condensation and segmentation. The percentage of apoptotic cells was estimated by morphological analysis of cells from at least 10–15 randomly selected microscopic fields.

Immunofluorescence Analysis of CAM Sections

CAM sections resected from embryos treated 48 hr prior with antagonists of α , β , or controls were washed, embedded in OTC (Baxter [Deerfield, Illinois]), and snap frozen in liquid nitrogen. Sections of CAM tissues 6 μ m in width were cut, fixed in acetone for 30 s, and stored at \sim 70°C until use. Tissue sections were prepared for staining by a brief rinse in 70% EtOH, followed by washing three times with PBS. Next, sections were blocked with 5.0% BSA in PBS for 2 hr, followed by incubation with 10 μ g/ml of MAb LM609 for 2 hr. These sections were then washed and incubated with a 1:50 dilution of rhodamine-conjugated goat anti-mouse IgG for 2 hr. Finally, CAM sections were washed and stained with the Apop Tag In Situ Apoptosis Detection Kit. Double-stained tissue sections were mounted and analyzed by confocal microscopy.

Cell Cycle Analysis

Single-cell suspensions of CAMs treated 48 hr prior with antagonists of α , β , or controls were prepared as previously described above for Apop Tag staining. Next, cells were rinsed in 0.1% Triton X-100 in PBS and were resuspended in FACS buffer containing 0.5% BSA, 0.02% sodium azide, and 200 μ g/ml RNase in PBS. Cells were incubated for 1.5 hr, followed by addition of 10 μ g/ml of propidium iodide and were incubated overnight at 4°C. The next day cells were washed and analyzed by FACS. Cell fluorescence was measured using a FACScan flow cytometer (Becton-Dickinson) as described above. The data

was analyzed using PC Lysis, version I software (Becton-Dickinson). Negative control gates were set using cell suspensions without primary antibodies. Identical gating was applied to both cell populations, resulting in the analysis of approximately 8000 events (cells) per condition.

Statistical Analysis

Statistical analysis was performed with a Stat Works program for Macintosh computers. Data was analyzed for statistical significance by Wilcoxon Signed Ranks and student t test.

Acknowledgments

D. A. C. is the corresponding author for this work. D. A. C. was supported by grants CA45726 and CA50286 from the National Institutes of Health (NIH) and the California State Tobacco-Related Disease Program, respectively, and by a Faculty Research Award from the American Cancer Society. P. C. B. was supported by NIH training grant number T32 AI 07244-11. The authors would like to thank Drs. C. Buck (Wistar Institute [Philadelphia, Pennsylvania]) for providing MAb CSAT and Dr. A. Jonczyk (E. Merck) for synthesizing and characterizing the peptides. This is manuscript number 8784-IMM from The Scripps Research Institute.

Received July 27, 1994; revised October 13, 1994.

References

Aumailley, M., Gurrath, M., Gerhard, M., Calvete, J., Timpl, R., and Kessler, H. (1991). Arg-Gly-Asp constrained within cyclic pentapeptides. Strong and selective inhibitors of cell adhesion to vitronectin and laminin fragment P1. *FEBS Lett.* 297, 50–54.

Basson, C. T., Köcher, O., Basson, M. D., Asisi, A., and Madri, J. A. (1992). Differential modulation of vascular cell integrin and extracellular matrix expression *in vitro* by TGF- β 1 correlates with reciprocal effects on cell migration. *J. Cell Physiol.* 163, 118–128.

Bianchine, P. J., Burd, P. R., and Metcalfe, D. D. (1992). IL-3-dependent mast cells attach to plate-bound vitronectin. *J. Immunol.* 149, 3665–3671.

Bissonnette, R. P., Echeverri, F., Mahboubi, A., and Green, D. R. (1992). Apoptotic cell death induced by c-myc is inhibited by bcl-2. *Nature*, 359, 552–554.

Blood, C. H., and Zetter, B. R. (1990). Tumor interactions with the vasculature: angiogenesis and tumor metastasis. *Biochim. Biophys. Acta* 1032, 89–118.

Brooks, P. C., Clark, R. A. F., and Cheresh, D. A. (1994). Requirement of vascular integrin α , β , for angiogenesis. *Science* 264, 569–571.

Cheresh, D. A. (1987). Human endothelial cells synthesize and express an Arg-Gly-Asp-directed adhesion receptor involved in attachment to fibrinogen and von Willebrand factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84, 6471–6475.

Cheresh, D. A. (1991). Structure, function and biological properties of integrin α , β , on human melanoma cells. *Cancer Metastasis Rev.* 10, 3–10.

Cheresh, D. A., and Spiro, R. C. (1987). Biosynthetic and functional properties of Arg-Gly-Asp-directed receptor involved in human melanoma cell attachment to vitronectin, fibrinogen and von Willebrand factor. *J. Biol. Chem.* 262, 17703–17711.

Cheresh, D. A., Berliner, S. A., Vicente, V., and Ruggier, Z. (1989a). Recognition of distinct adhesive sites on fibrinogen by related integrin on platelets and endothelial cells. *Cell* 58, 945–953.

Cheresh, D. A., Smith, J. W., Cooper, H. M., and Quaranta, V. (1989b). A novel vitronectin receptor integrin (α , β) is responsible for distinct adhesive properties of carcinoma cells. *Cell* 57, 59–69.

Dameron, K. M., Volpert, O. V., Tainsky, M. A., and Bouck, N. (1994). Control of angiogenesis in fibroblasts by p53 regulation of thrombospondin-1. *Science* 265, 1582–1584.

D'Amore, P. A., and Thompson, R. W. (1987). Mechanisms of angiogenesis. *Annu. Rev. Physiol.* 49, 453–484.

Defilippi, P., Bozzo, C., Volpe, G., Romano, G., Venturino, M., Silengo,

L., and Tarone, G. (1994). Integrin-mediated signal transduction in human endothelial cells: analysis of tyrosine phosphorylation events. *Cell Adhesion Commun.* 2, 75-86.

Enenstein, J., and Kramer, R. H. (1994). Confocal microscopic analysis of integrin expression on the microvasculature and its sprouts in the neonatal foreskin. *J. Invest. Dermatol.* 103, 381-386.

Enenstein, J., Waleh, N. S., and Kramer, R. H. (1992). Basic FGF and TGF- β differentially modulate integrin expression of human microvascular endothelial cells. *Exp. Cell Res.* 203, 499-503.

Felding-Habermann, B., Mueller, B. M., Romerdahl, C. A., and Cheresh, D. A. (1992). Involvement of integrin α_5 gene expression in human melanoma tumorigenicity. *J. Clin. Invest.* 89, 2018-2022.

Folkman, J. (1992). The role of angiogenesis in tumor growth. *Semin. Cancer Biol.* 3, 65-71.

Folkman, J., and Shing, Y. (1992). Angiogenesis. *J. Biol. Chem.* 267, 10931-10934.

Fotsis, T., Zhang, Y., Peper, M. S., Adlercreutz, H., Montesano, R., Nawroth, P. P., and Schweigert, L. (1994). The endogenous oestrogen metabolite 2-methoxyoestradiol inhibits angiogenesis and suppresses tumor growth. *Nature* 368, 237-239.

Frisch, S. M., and Francis, H. (1994). Disruption of epithelial cell-matrix interactions induces apoptosis. *J. Cell Biol.* 124, 619-626.

Gavrieli, Y., Sherman, Y., and Ben-Sasson, S. A. (1992). Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J. Cell Biol.* 119, 493-501.

Gladson, C. L., and Cheresh, D. A. (1991). Glioblastoma expression of vitronectin and the $\alpha_5\beta_1$ integrin. *J. Clin. Invest.* 88, 1924-1932.

Hynes, R. O. (1992). Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell* 69, 11-25.

Ingber, D. (1991). Extracellular matrix and cell shape: potential control points for inhibition of angiogenesis. *J. Cell Biochem.* 47, 236-241.

Ingber, D., and Folkman, J. (1989). Mechanochemical switching between growth and differentiation during fibroblast growth factor-stimulated angiogenesis *in vitro*: role of extracellular matrix. *J. Cell Biol.* 109, 317-330.

Ingber, D. E., Madri, J. A., and Folkman, J. (1986). A possible mechanism for inhibition of angiogenesis by angiostatic steroids: induction of capillary basement membrane dissolution. *Endocrinology* 119, 1768-1775.

Ingber, D., Fujita, T., Fishimoto, S., Sudo, K., Kanamaru, T., Brem, H., and Folkman, J. (1990). Synthetic analogues of fumagillin that inhibit angiogenesis and suppress tumor growth. *Nature* 348, 555-557.

Kornberg, L., Earp, H. S., Parson, J. T., Schaller, M., and Julian, R. L. (1992). Cell adhesion or integrin clustering increases phosphorylation of a focal adhesion-associated tyrosine kinase. *J. Biol. Chem.* 267, 23439-23442.

Koyama, N., Watanabe, S., Tezuka, M., Morisaki, N., Saito, Y., and Yoshida, S. (1994). Migratory and proliferative effects of platelet-derived growth factor in rabbit retinal endothelial cells: evidence of an autocrine pathway of platelet-derived growth factor. *J. Cell Physiol.* 158, 1-6.

Leavesley, P. I., Ferguson, G. D., Wayner, E. A., and Cheresh, D. A. (1992). Requirement of the integrin $\beta 3$ subunit for carcinoma cell spreading or migration on vitronectin and fibrinogen. *J. Cell Biol.* 117, 1101-1107.

Leavesley, P. I., Schwartz, M. A., Rosenfeld, M., and Cheresh, D. A. (1993). Integrin $\beta 1$ - and $\beta 3$ -mediated endothelial cell migration is triggered through distinct signaling mechanisms. *J. Cell Biol.* 121, 163-170.

Lin, C. Q., and Bissell, M. J. (1993). Multi-faceted regulation of cell differentiation by extracellular matrix. *FASEB J.* 7, 737-743.

Meredith, J. E., Fazeli, B., and Schwartz, M. A. (1993). The extracellular matrix as a cell survival factor. *Mol. Biol. Cell* 4, 953-961.

Mignatti, P., and Rifkin, D. B. (1991). Release of basic fibroblast growth factor, an angiogenic factor devoid of secretory signal sequence: a trivial phenomenon or a novel secretion mechanism. *J. Cell. Biochem.* 471, 201-207.

Montgomery, A. M. P., Reisfeld, R. A., and Cheresh, D. A. (1994). Integrin $\alpha_5\beta_1$ rescues melanoma cells from apoptosis in a three-dimensional dermal collagen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, 8856-8860.

Paku, S., and Paweletz, N. (1991). First steps of tumor-related angiogenesis. *Lab. Invest.* 65, 334-346.

Pfaff, M., Tangemann, K., Muller, B., Gurrath, M., Muller, G., Kessler, H., Timpl, R., and Engel, J. (1994). Selective recognition of cyclic RGD peptides of NMR-defined conformation by $\alpha 1\beta 1\beta 3$, $\alpha_5\beta_1$, and $\alpha 5\beta 1$ integrins. *J. Biol. Chem.* 269, 20233-20238.

Romer, L. H., McLean, N., Turner, C. E., and Burridge, K. (1994). Tyrosine kinase activity cytoskeletal organization and motility in human vascular endothelial cells. *Mol. Biol. Cell* 5, 349-361.

Ruosohti, E., and Reed, J. C. (1994). Anchorage dependence, integrins, and apoptosis. *Cell* 77, 477-478.

Sastry, S. K., and Horwitz, A. F. (1993). Integrin cytoplasmic domains: mediators at cytoskeletal linkages and extra- and intracellular initiated transmembrane signaling. *Curr. Opin. Cell Biol.* 5, 819-831.

Schwartz, M. A. (1993). Signaling by Integrins: Implications for tumorigenesis. *Cancer Res.* 51, 1503-1505.

Takeshita, S., Zheng, L. P., Brogi, E., Kearney, M., Pu, L., Bunting, S., Ferrara, N., Symes, J. F., and Isner, J. M. (1994). Therapeutic angiogenesis. *J. Clin. Invest.* 93, 662-670.

Telford, W. G., King, L. E., and Fraker, P. J. (1992). Comparative evaluation of several DNA binding dyes in the detection of apoptosis-associated chromatin degradation by flow cytometry. *Cytometry* 13, 137-143.

Wayner, E. A., Orlando, R. A., and Cheresh, D. A. (1991). Integrin $\alpha_5\beta_1$ and $\alpha_5\beta_3$ contribute to cell attachment to vitronectin but differentially distribute to the cell surface. *J. Cell Biol.* 113, 919-929.

Weidner, N., Folkman, J., Pozza, F., Bevilacqua, P., Allred, E. N., Moore, D. H., Mell, S., and Gasparini, G. (1992). Tumor angiogenesis: a new significant and independent prognostic indicator in early-stage breast carcinoma. *J. Natl. Cancer Inst.* 84, 1875-1887.

Weidner, N., Carroll, P. R., Flax, J., Blumenfeld, W., and Folkman, J. (1993). Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive prostate carcinoma. *Am. J. Pathol.* 143, 401-409.

Weinstal-Saslow, D., and Steeg, P. S. (1994). Angiogenesis and colonization in the tumor metastatic process: basic and applied advances. *FASEB J.* 8, 401-407.

Interaction of Integrins $\alpha_v\beta_3$ and Glycoprotein IIb-IIIa with Fibrinogen DIFFERENTIAL PEPTIDE RECOGNITION ACCOUNTS FOR DISTINCT BINDING SITES*

(Received for publication, March 14, 1990)

Jeffrey W. Smith[†], Zaverio M. Ruggeri[†], Thomas J. Kunicki[†], and David A. Cheresh[‡]

From the Departments of [†]Immunology and [‡]Molecular and Experimental Medicine and the Committee on Vascular Biology, Scripps Clinic and Research Foundation, La Jolla, California 92037 and [‡]The Blood Center of Southeastern Wisconsin, Milwaukee, Wisconsin 53233

Glycoprotein (GP) IIb-IIIa is the major fibrinogen receptor on platelets and participates in platelet aggregation at the site of a wound. Integrin $\alpha_v\beta_3$, which contains an identical β -subunit, is expressed on endothelial cells and also serves as a fibrinogen receptor. Here, we demonstrate by several criteria that purified GPIIb-IIIa and integrin $\alpha_v\beta_3$ bind to distinct sites on fibrinogen. First, a plasmin-generated fragment of fibrinogen lacking the RGD sequence at residues 572–574 retained the ability to bind GPIIb-IIIa, but failed to bind integrin $\alpha_v\beta_3$. Second, a monoclonal antibody which exclusively recognizes the RGD sequence at fibrinogen A α chain residues 572–574 abolished interaction between integrin $\alpha_v\beta_3$ and fibrinogen, but had only a minimal effect on fibrinogen binding to GPIIb-IIIa. Finally, we show that the difference in recognition of sites on fibrinogen by these two integrins is probably a consequence of their remarkably different ligand binding properties. Peptides corresponding to fibrinogen γ chain residues 400–411 effectively blocked RGD sequence and fibrinogen binding by GPIIb-IIIa, but had no effect on the ability of integrin $\alpha_v\beta_3$ to bind these ligands. We also show that integrin $\alpha_v\beta_3$ has a higher affinity than GPIIb-IIIa for a synthetic hexapeptide containing the RGD sequence. In fact, this RGD-containing peptide was 150-fold more effective at blocking fibrinogen binding to integrin $\alpha_v\beta_3$ than to GPIIb-IIIa. Collectively, our results demonstrate that integrin $\alpha_v\beta_3$ and GPIIb-IIIa display qualitative and quantitative differences in their ligand binding properties, as is evident by their ability to interact with synthetic peptides. The ultimate result of these differences is the recognition of distinct sites on fibrinogen by the two integrins. These observations may have relevance in the processes of hemostasis and wound healing.

Platelet membrane glycoprotein (GP)¹ IIb-IIIa and integrin

* This work was supported in part by National Institutes of Health Grants CA45726 and CA50286 (to D. A. C.), Grant HL32279 (to T. J. K.), and Grants HL31950 and HL37522 (to Z. M. R.) and a grant from E. Merck AG (Darmstadt, Federal Republic of Germany). This is Research Institute of Scripps Clinic Paper 6194IMM. The costs of publication of this article were defrayed in part by the payment of page charges. This article must therefore be hereby marked "advertisement" in accordance with 18 U.S.C. Section 1734 solely to indicate this fact.

† Supported by a fellowship from the Cancer Research Institute (New York, NY).

¹ The abbreviations used are: GP, glycoprotein; SASD, sulfosuccinimidyl 2-(*p*-azidosalicylamido)-1,3'-dithiopropionate; SDS-PAGE, sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis; mAb, monoclonal antibody; VNR, vitronectin receptor or integrin $\alpha_v\beta_3$.

$\alpha_v\beta_3$ are closely related cell-surface receptors that mediate interactions between cells and adhesive proteins. These integrins have identical β subunits, highly homologous α subunits (1–3), and recognize several of the same ligands. For example, both receptors bind to vitronectin, von Willebrand factor, and fibrinogen (4, 5). However, there is a marked difference in the physiological consequences of fibrinogen binding to these two integrins since their cellular distribution is different. GPIIb-IIIa is expressed on the platelet surface and is the receptor that mediates platelet aggregation and the formation of a hemostatic plug at the site of a wound (6). Integrin $\alpha_v\beta_3$ is found on platelets (7), but its distribution is not limited to these cells. In addition, it is also found on endothelial, smooth muscle, and tumor cells (4, 8, 9) and therefore may participate in a number of processes involving cell adhesion and tissue remodeling.

Both GPIIb-IIIa and integrin $\alpha_v\beta_3$ directly bind small synthetic peptides containing the RGD sequence, and the interactions between these receptors and their target ligands are blocked by RGD-containing peptides (10–12). Since vitronectin, von Willebrand factor, and fibrinogen all contain at least one RGD sequence within their primary structure (13–15), it is generally thought that the interaction between receptor and adhesive protein is mediated through the RGD sequence within the adhesive proteins.

Of particular interest is fibrinogen, which is the only clottable protein in plasma, and binds both integrin $\alpha_v\beta_3$ and GPIIb-IIIa. Fibrinogen is composed of three polypeptide chains covalently linked through disulfide bonds (15). The A α chain of fibrinogen contains two RGD sites within its sequence. Evidence for the interaction between synthetic peptides homologous to these sequences and GPIIb-IIIa has been reported (16); and in fact, these peptides will inhibit platelet aggregation (10). In addition, a large body of evidence (17–19) indicates that GPIIb-IIIa can also interact with a third site on fibrinogen near the carboxyl terminus of the γ chain. Synthetic peptides corresponding to γ chain residues 400–411 will block fibrinogen binding of platelets and platelet aggregation. Thus, there is evidence indicating the GPIIb-IIIa may interact with at least three sites on fibrinogen.

Integrin $\alpha_v\beta_3$ also mediates cell adhesion to fibrinogen (4, 5), yet little is known about the location of the $\alpha_v\beta_3$ -binding site on this molecule. Given the structural similarity between $\alpha_v\beta_3$ and GPIIb-IIIa, one might hypothesize that $\alpha_v\beta_3$ and GPIIb-IIIa would bind the same sites on fibrinogen. However, $\alpha_v\beta_3$ and GPIIb-IIIa contain different α subunits, suggesting the possibility of differential ligand recognition. Additionally, no evidence has been presented indicating that $\alpha_v\beta_3$ is capable of directly interacting with peptides other than those containing an RGD sequence. This is especially pertinent since GPIIb-IIIa binds peptides composed of the fibrinogen γ chain

sequence, which lacks an RGD sequence (19). In this regard, it has been demonstrated (20) that endothelial cells, which express $\alpha_3\beta_3$ as a major cell-surface integrin, recognize a site on fibrinogen distinct from the site recognized by platelets. Here, we provide an explanation for this observation. Purified $\alpha_3\beta_3$ binds exclusively to the RGD sequence found at fibrinogen α chain residues 572-574, yet GPIIb-IIIa binding to fibrinogen is not restricted to this site. This differential recognition of fibrinogen is probably a consequence of two facts: 1) GPIIb-IIIa can bind a sequence at the carboxyl terminus of the γ chain, whereas $\alpha_3\beta_3$ cannot; and 2) $\alpha_3\beta_3$ displays a higher affinity for the prototypic RGD sequence. These data provide a rigorous demonstration that two closely related integrins are capable of binding distinct and spatially distant sites within a single adhesive protein.

EXPERIMENTAL PROCEDURES

Materials—Synthetic peptides were from E. Merck AG (Darmstadt, Federal Republic of Germany) or were synthesized as previously described (21). *N*-Hydroxysuccinimidobiotin and alkaline phosphatase-conjugated anti-biotin antibody were obtained from Sigma. The alkaline phosphatase development kit was from Bio-Rad. Microtiter plates were obtained from TiterTek. Na¹²⁵I was purchased from Amersham Corp. Sulfosuccinimidyl 2-(*p*-azidosalicylamido)-1,3'-di thiopropionate (SASD) was purchased from Pierce Chemical Co.

Protein Purification—Human integrin $\alpha_3\beta_3$ was purified from placenta by monoclonal antibody affinity chromatography as previously described (22). GPIIb-IIIa was purified from outdated human platelets as described (23). The purity of each receptor was 90% as judged by Coomassie Blue staining of SDS-PAGE, and there was no cross-contamination of receptor preparations as judged by enzyme-linked immunosorbent assay. Fibrinogen was purified from human blood collected into 0.01 M trisodium citrate and 0.01 M ϵ -aminocaproic acid using the glycine precipitation method previously reported (24). "Early" fragment X of fibrinogen was obtained by plasmic digestion of fibrinogen under conditions previously reported (25).

Preparation of Monoclonal Antibody 134B-29—mAb 134B-29 was raised by immunization of BALB/c mice with a peptide having a sequence corresponding to fibrinogen α chain residues 566-580 coupled to keyhole limpet hemocyanin, as previously described (26). Mouse spleen cells were fused with the mouse plasmacytoma cell line P3X63-A8.653, and culture supernatants were screened for reactivity to immobilized fibrinogen by enzyme-linked immunoassay (26). Positive hybridomas were subcloned twice by limiting dilution (27). Monoclonal IgG was produced in ascites fluid as described (28). IgG was purified by affinity chromatography on a column containing the peptide immunogen linked to Sepharose.

Solid-phase Ligand Binding Assay—Ligand binding to purified GPIIb-IIIa and $\alpha_3\beta_3$ was determined by a solid-phase receptor binding assay originally described by Nachman and Leung (29) and communicated to us with modifications by Charo and Phillips.² Adhesive proteins were biotinylated and used as soluble ligands. Proteins were conjugated to biotin by initially dialyzing into 0.1 M NaHCO₃ (pH 8.3) + 0.1 M NaCl. *N*-Hydroxysuccinimidobiotin (1 mg/ml in dimethyl sulfoxide) was added to the adhesive protein to yield a final concentration of 0.1 mg/ml biotin. The mixture was left for 2 h at room temperature and subsequently dialyzed against phosphate-buffered saline.

GPIIb-IIIa and $\alpha_3\beta_3$ were immobilized in TiterTek 96-well plates at 1 μ g/ml in 20 mM Tris (pH 7.4), 150 mM NaCl, and 1 mM each CaCl₂, MgCl₂, and MnCl₂. Immobilization was allowed to proceed for 14-18 h at 4 °C, after which time the plates were blocked with 35 mg/ml bovine serum albumin in binding buffer (50 mM Tris-HCl (pH 7.4), 100 mM NaCl, and 1 mM each CaCl₂, MgCl₂, and MnCl₂) for 2 h at 30 °C. Biotinylated ligand was added to the wells of the plate at a final concentration of 1 μ g/ml in binding buffer for 3 h at 30 °C. The plates were subsequently washed three times with binding buffer and incubated with a 1:2000 dilution of anti-biotin antibody which was coupled to alkaline phosphatase (Sigma). This incubation was allowed to proceed for an additional hour, at which time the plates were washed and developed. Binding was assessed by determining the absorbance at 405 nm.

Ligand binding measured by assay was judged specific by several criteria. Excess unlabeled ligand was capable of competing for the binding of biotinylated ligand. Biotinylated bovine serum albumin and irrelevant IgG did not bind to immobilized receptors. Ligand binding required the presence of divalent cations in the previously reported concentration ranges (22, 30). Monoclonal antibody LM 609 to $\alpha_3\beta_3$ blocked ligand binding to $\alpha_3\beta_3$, but not to GPIIb-IIIa. Conversely, monoclonal antibody CP3, which recognizes GPIIb-IIIa, blocked ligand binding to this receptor, but had no effect on binding to $\alpha_3\beta_3$. Ligand binding to both receptors was inhibited by the synthetic peptide GRGDSP.

Photoaffinity Cross-linking Studies—Purified GPIIb-IIIa and $\alpha_3\beta_3$ were affinity-labeled with ¹²⁵I-SASD-GRGDSPK as previously described (21). Briefly, ¹²⁵I-SASD-GRGDSPK (2.5 \times 10⁶ cpm, 1 \times 10⁻⁷ M) and competing peptides were incubated with purified receptors at 100 μ g/ml for 2 h at room temperature. Samples were photolyzed with UV light and analyzed by SDS-PAGE. To achieve the best electrophoretic separation of receptor subunits, $\alpha_3\beta_3$ was analyzed under nonreducing conditions, and GPIIb-IIIa was analyzed under reducing conditions. Cross-linking to both subunits was quantified by integration of densitometry scans of autoradiographs. It is worth noting that in contrast to the photoaffinity approaches used here, chemical cross-linking of ligands to receptors is limited not only by the proximity of the two moieties, but also by the number of available reactive amino acid side chains. Thus, it is likely that in the previous studies of D'Souza *et al.* (16), the inability to chemically cross-link the IIb subunit with the RGD sequence was due to the lack of appropriate reactive amino acid side chains, *i.e.* lysine residues, on GPIIb proximal to the RGD sequence-binding site.

RESULTS AND DISCUSSION

Several lines of evidence indicate that GPIIb-IIIa can interact with three sites within fibrinogen, including two RGD sequences on the α chain and a site at the carboxyl terminus of the γ chain (17, 18, 31, 32). However, little is known regarding the binding site on fibrinogen for integrin $\alpha_3\beta_3$. Since $\alpha_3\beta_3$ binds to fibrinogen in an RGD-dependent manner, we considered it likely that one or both of the RGD sequences on the α chain of fibrinogen mediated this interaction. One of these RGD sequences, fibrinogen residues 572-574, can be removed by limited plasmic digestion of the molecule to yield what is termed early fragment X (25). This fragment of fibrinogen is found in plasma and retains the ability to bind GPIIb-IIIa, albeit with a lower affinity than the native molecule (33, 34). We examined the ability of this fibrinogen fragment to bind purified $\alpha_3\beta_3$. As shown in Fig. 1, soluble vitronectin and native fibrinogen bound to immobilized $\alpha_3\beta_3$ and GPIIb-IIIa in a concentration-dependent and saturable manner. As previously reported (33, 34), fragment X of fibrinogen retained the ability to bind GPIIb-IIIa (Fig. 1, *upper*). However, this fragment did not bind purified $\alpha_3\beta_3$ (Fig. 1, *lower*). These data indicate that GPIIb-IIIa and integrin $\alpha_3\beta_3$ recognize fibrinogen by different means and that domains on fibrinogen that are absent in fragment X are absolutely required for binding to $\alpha_3\beta_3$. These results provide a biochemical explanation of previous results (20) which showed that endothelial cells and platelets adhere to different sites on fibrinogen.

The results presented in Fig. 1 indicated that $\alpha_3\beta_3$ may bind exclusively to the RGD sequence at α residues 572-574 since these residues are absent in fragment X. We chose to explore this possibility more rigorously by using a monoclonal antibody to a synthetic peptide with a sequence corresponding to α chain residues 566-580 (SSTS^YNRGDSTFESK). This antibody, mAb 134B-29, was chosen for these studies based on several criteria. First, the reactivity of this antibody required the integrity of the RGD sequence since substitution of these residues abolished antibody binding. Second, mAb 134B-29 failed to react with a peptide corresponding to the NH₂-terminal RGD sequence within fibrinogen, *i.e.* α chain

² I. Charo and D. Phillips, unpublished data.

residues 87–100. Finally, mAb 134B-29 reacted with intact fibrinogen, but not with early fragment X (20). The ability of mAb 134B-29 to inhibit binding of native fibrinogen to GPIIb-IIIa and $\alpha_v\beta_3$ was determined by a solid-phase ligand binding assay. As shown in Fig. 2, mAb 134B-29 completely blocked fibrinogen binding to $\alpha_v\beta_3$ in a concentration-dependent manner. The IC_{50} of this interaction was 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$. In contrast, this antibody had only a partial effect on fibrinogen binding to GPIIb-IIIa (37% inhibition at 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ IgG). This result pinpoints the $\alpha_v\beta_3$ -binding site on fibrinogen to A α residues 572–574 and also explains why fragment X did not bind to $\alpha_v\beta_3$ (Fig. 1). In addition, this demonstrates that in native fibrinogen, the RGD sequence at A α residues 93–95 does not interact with integrin $\alpha_v\beta_3$. Therefore, the mere presence of the RGD sequence in a known adhesive protein does not necessarily demonstrate its functional importance.

The differential recognition of fibrinogen by $\alpha_v\beta_3$ and GPIIb-IIIa may be the result of different affinities for the RGD sequence of the two integrins or a difference in their

capacity to interact with the carboxyl terminus of the γ chain. We examined these possibilities by photoaffinity labeling the two receptors with an RGD peptide and quantifying the ability of unlabeled synthetic peptides to compete for this interaction. As shown in Fig. 3, both subunits of $\alpha_v\beta_3$ and GPIIb-IIIa were affinity-labeled with ^{125}I -SASP-GRGDSPK. The fact that both subunits of each receptor were affinity-labeled is consistent with our previous reports (22, 35) regarding photoaffinity labeling of $\alpha_v\beta_3$, where we demonstrated that ~80% of the label was incorporated into β_3 , and 20% became associated with α_v . We assessed the ability of γ chain and RGD peptides to block RGD sequence recognition by purified GPIIb-IIIa and $\alpha_v\beta_3$. Purified receptors were admixed with ^{125}I -SASP-GRGDSPK and photolyzed as previously described (22). Competition was performed by simultaneous addition of unlabeled GRGDSP or the γ chain peptide HHLGGAKGAGDV (H12). Fig. 3 demonstrates that both H12 and the RGD peptide blocked cross-linking to GPIIb-IIIa (A and B), but that the γ chain peptide had no effect on RGD binding to $\alpha_v\beta_3$ (C). In fact, the γ chain peptide had no effect on RGD binding to $\alpha_v\beta_3$ at competing peptide concentrations as high as 800 μM (data not shown). This result was substantiated by similar experiments in which we examined the ability of H12 to inhibit native fibrinogen binding to purified $\alpha_v\beta_3$ and GPIIb-IIIa. As shown in Fig. 4, 250 μM H12 blocked fibrinogen binding to purified GPIIb-IIIa by 73%, but had only a negligible effect on binding to $\alpha_v\beta_3$. Thus, H12 is ineffective at blocking RGD and native fibrinogen binding to $\alpha_v\beta_3$. Both of these results are consistent with the fact that γ chain peptides failed to elute $\alpha_v\beta_3$ from RGD-Sepharose columns (36) and also failed to support $\alpha_v\beta_3$ -mediated cell adhesion (20). Collectively, the experimental evidence indicates that $\alpha_v\beta_3$ is incapable of interacting with the fibrinogen γ chain sequence.

Densitometry scanning of autoradiographs shown in Fig. 3 also showed that $\alpha_v\beta_3$ apparently has a higher affinity for the prototypic RGD sequence than does GPIIb-IIIa. Under identical receptor and cross-linker concentrations, 16-fold less unlabeled RGD peptide was required to block affinity labeling of $\alpha_v\beta_3$ than of GPIIb-IIIa (one-half maximal inhibition at 0.06 versus 1 μM). This indicates that $\alpha_v\beta_3$ has a higher affinity for the RGD sequence than does GPIIb-IIIa. We also examined the ability of GRGDSP to inhibit native fibrinogen binding to $\alpha_v\beta_3$ and GPIIb-IIIa. As shown in Fig. 5, 150-fold less GRGDSP was required to achieve one-half maximal

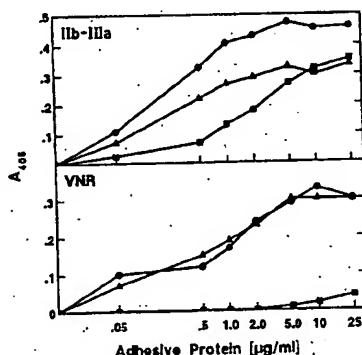
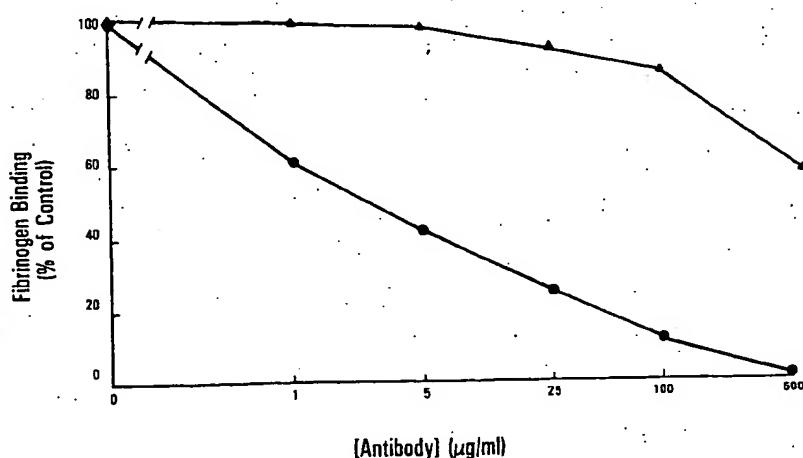


FIG. 1. Binding of fibrinogen fragment X to $\alpha_v\beta_3$ and GPIIb-IIIa. The binding of fibrinogen (●), fragment X of fibrinogen (■), and vitronectin (▲) to GPIIb-IIIa (upper) and $\alpha_v\beta_3$ (lower) was examined by the solid-phase ligand binding assay described under "Experimental Procedures." Biotinylated adhesive proteins were allowed to bind immobilized receptors for 3 h at 30 °C. Free ligand was removed by washing three times. The amount of bound ligand was determined by incubation with alkaline phosphatase-conjugated anti-biotin antibody and subsequent development. Binding was detected as the absorbance at 405 nm and is represented as the average of triplicate data points in which the standard deviation was less than 7%.

FIG. 2. mAb 134B-29 blocks fibrinogen binding to $\alpha_v\beta_3$. The ability of mAb 134B-29, which binds to the RGD sequence at A α chain residues 572–574, to block fibrinogen binding to $\alpha_v\beta_3$ (●) and GPIIb-IIIa (▲) was determined by the solid-phase ligand binding assay described under "Experimental Procedures." Biotinylated fibrinogen and various concentrations of mAb 134B-29 were added to immobilized receptors for 3 h at 30 °C. Fibrinogen binding was determined with alkaline phosphatase-conjugated anti-biotin antibody. The data are presented as percentage of control binding and are the average of triplicate data points in which the standard deviation was less than 3%.



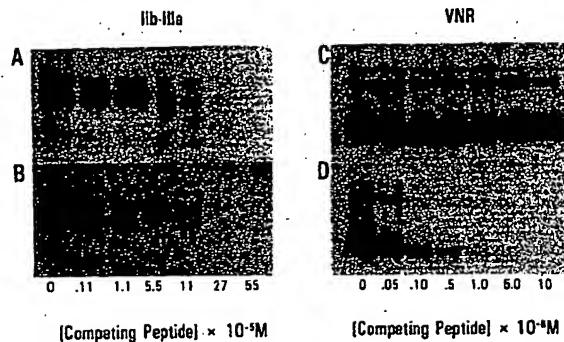
Interaction of Integrins β_3 with Fibrinogen

FIG. 3. Inhibition of cross-linking of ^{125}I -SASD-GRGDSPK to integrins β_3 by GRGDSP and H12. The ability of GRGDSP (B and D) and H12 (A and C) to block the interaction between ^{125}I -SASD-GRGDSPK and $\alpha_3\beta_3$ (C and D) or GPIIb-IIIa (A and B) was assessed by a competition assay. Competing peptides and $2.5 \times 10^6 \text{ cpm}$ ($1 \times 10^{-7} \text{ M}$) of ^{125}I -SASD-GRGDSPK were incubated with purified $\alpha_3\beta_3$ or GPIIb-IIIa in solution for 90 min at room temperature. Samples were subsequently photolyzed with UV light, and the amount of cross-linking was determined by autoradiography of SDS-PAGE. To achieve the best separation of receptor subunits $\alpha_3\beta_3$ was analyzed under nonreducing conditions, and GPIIb-IIIa was analyzed under reducing conditions.

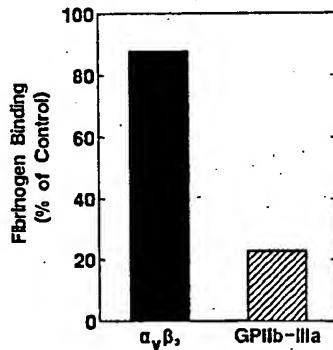


FIG. 4. Differential effects of H12 on fibrinogen binding to $\alpha_3\beta_3$ and GPIIb-IIIa. The capacity of the fibrinogen γ chain peptide ($250 \mu\text{M}$ H12) to block binding of native fibrinogen to $\alpha_3\beta_3$ (black bar) and GPIIb-IIIa (cross-hatched bar) was examined by the solid-phase binding assay described under "Experimental Procedures." The data are from a representative experiment and are presented as the percentage of fibrinogen binding in the presence of an equimolar amount of a peptide with a random sequence. Standard deviation in these experiments was typically less than 7%.

inhibition of fibrinogen binding to $\alpha_3\beta_3$ than to GPIIb-IIIa. This observation is consistent with the differential affinities that $\alpha_3\beta_3$ and GPIIb-IIIa have for GRGDSP (Fig. 3). Although $\alpha_3\beta_3$ and GPIIb-IIIa are structurally similar, our results demonstrate that the two integrins display remarkable quantitative and qualitative differences in their ligand binding properties. The ultimate result of these differences is that $\alpha_3\beta_3$ and GPIIb-IIIa bind to distinct sites on fibrinogen.

The physiological consequences of differential recognition of fibrinogen may extend to the model of fibrinogen interaction with platelets that was recently proposed by Hawiger *et al.* (17). In this model, it was suggested that a single fibrinogen molecule, by virtue of its two RGD sequences and γ chain sequence, may be capable of interacting with three GPIIb-IIIa molecules simultaneously. This trivalent interaction would increase the affinity of fibrinogen for the platelet surface. It was also suggested that fibrinogen dimers would

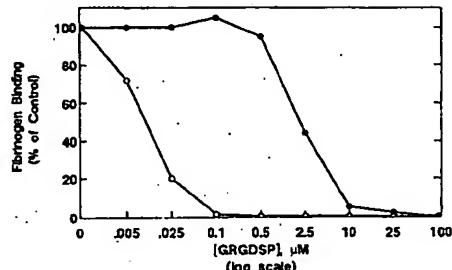


FIG. 5. Inhibition of fibrinogen binding to integrin $\alpha_3\beta_3$ and GPIIb-IIIa by GRGDSP. The ability of the prototypic RGD sequence (GRGDSP) to inhibit fibrinogen binding to purified $\alpha_3\beta_3$ (○) and GPIIb-IIIa (●) was examined by the solid-phase assay described under "Experimental Procedures." Biotinylated fibrinogen and various concentrations of GRGDSP were simultaneously added to immobilized receptors for 3 h at 30°C . Fibrinogen binding was determined with alkaline phosphatase-conjugated anti-biotin antibody. The data are from a representative experiment and are presented as a percentage of binding in the absence of competing ligand. Data points were collected in triplicate, and the standard deviation was less than 7%.

form a "bridge" between two platelets, thereby facilitating platelet aggregation. In light of the results presented here and the identification of integrin $\alpha_3\beta_3$ on the platelet surface (7), it is possible that $\alpha_3\beta_3$ acts in concert with GPIIb-IIIa in this process. Perhaps more importantly, our data suggest a mechanism for the bridging of the platelet plug to the endothelial cell surface. A fibrinogen molecule bound to GPIIb-IIIa on the platelet surface might simultaneously bind to $\alpha_3\beta_3$ on the endothelial cell, thus forming a bridge between the two. However, unchecked contact between the platelet plug and the vessel wall via a fibrinogen link may also lead to a pathological occlusion of the vessel. In this regard, it is worth noting that the $\alpha_3\beta_3$ -binding site on fibrinogen is near the most sensitive plasmin cleavage sites within fibrinogen (37); therefore, this protease excises the $\alpha_3\beta_3$ -binding site during fibrinolysis. This process is known to generate fragment X (25), which we show here will bind to GPIIb-IIIa, but not to $\alpha_3\beta_3$. Therefore, fibrinolysis may disrupt the bridge between the platelet and endothelium by simply excising the $\alpha_3\beta_3$ -binding site.

In conclusion, our results demonstrate that despite the remarkable structural similarities between $\alpha_3\beta_3$ and GPIIb-IIIa, striking differences exist in the way the two integrins bind fibrinogen. Integrin $\alpha_3\beta_3$ exclusively recognizes the RGD sequence at $\text{A}\alpha$ chain residues 572-574, whereas GPIIb-IIIa does not require this sequence. This is the result of the differential affinities that $\alpha_3\beta_3$ and GPIIb-IIIa have for the RGD sequence and the inability of $\alpha_3\beta_3$ to recognize the carboxyl terminus of the fibrinogen γ chain.

Acknowledgments—We wish to thank Sally Irwin, Diane Sander, and Mark Boatman for superb technical assistance. We thank Deborah Vestal, Brunhilde Felding-Habermann, and Robert Orlando for critical reading of the manuscript. We also thank Lynne Kottel for preparation of this manuscript.

REFERENCES

1. Fitzgerald, L. A., Steiner, B., Rall, S. C., Jr., Lo, S., and Phillips, D. R. (1987) *J. Biol. Chem.* **262**, 3936-3939
2. Fitzgerald, L. A., Poncz, M., Steiner, B., Rall, S. C., Bennett, J. S., and Phillips, D. R. (1987) *Biochemistry* **26**, 8158-8165
3. Suzuki, S., Argraaves, W. S., Arai, H., Languino, L. R., Pierschbacher, M. D., and Ruoslahti, E. (1987) *J. Biol. Chem.* **262**, 14080-14085
4. Cheresh, D. A. (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **84**, 6471-6475

5. Charo, I. F., Bekeart, L. S., and Phillips, D. R. (1987) *J. Biol. Chem.* **262**, 9935-9938
6. Phillips, D. R., Charo, I. F., Parise, L. V., and Fitzgerald, L. A. (1988) *Blood* **71**, 831-843
7. Lam, S.-C. T., Plow, E. F., D'Souza, S. E., Cheresh, D. A., Frelinger, A. L., III and Ginsberg, M. H. (1989) *J. Biol. Chem.* **264**, 3742-3749
8. Lawler, J., Weinstein, R., and Hynes, R. O. (1988) *J. Cell Biol.* **107**, 2351-2361
9. Cheresh, D. A., and Spiro, R. C. (1987) *J. Biol. Chem.* **262**, 17703-17711
10. Haverstick, D. M., Cowan, J. F., Yamada, K. M., and Santoro, S. A. (1985) *Blood* **66**, 946-952
11. Gartner, T. K., and Bennett, J. S. (1985) *J. Biol. Chem.* **260**, 11891-11894
12. Pytela, R., Pierschbacher, M., and Ruoslahti, E. (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **82**, 5766-5770
13. Suzuki, S., Oldberg, A., Hayman, E. G., Pierschbacher, M. D., and Ruoslahti, E. (1985) *EMBO J.* **4**, 2519-2524
14. Titana, K., Kumar, S., Takio, K., Ericsson, L. H., Wade, R. D., Ashida, K., Walsh, K. A., Chopek, M. W., Sadler, J. E., and Fujikawa, K. (1986) *Biochemistry* **25**, 3171-3176
15. Doolittle, R. F., Watt, K. W. K., Colltrell, B. A., Strong, D. D., and Riley, M. (1979) *Nature* **280**, 464-468
16. D'Souza, S. E., Ginsberg, M. H., Lam, S.-C. T., and Plow, E. F. (1988) *J. Biol. Chem.* **263**, 3943-3951
17. Hawiger, J., Kloczewiak, M., Bednarek, M. A., and Timmons, S. (1989) *Biochemistry* **28**, 2909-2914
18. Kloczewiak, M., Timmons, S., Lukas, T. J., and Hawiger, J. (1984) *Biochemistry* **23**, 1767-1774
19. Santoro, S. A., and Lawing, W. J. (1987) *Cell* **48**, 867-873
20. Cheresh, D. A., Berliner, S., Vincente, V., and Ruggeri, Z. M. (1989) *Cell* **58**, 945-953
21. Houghten, R. A. (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **82**, 5131-5135
22. Smith, J. W., and Cheresh, D. A. (1988) *J. Biol. Chem.* **263**, 18726-18731
23. Parise, L. V., and Phillips, D. R. (1985) *J. Biol. Chem.* **260**, 10698-10707
24. Kazal, L. A., Amsel, S., Miller, O. P., and Tocantins, L. M. (1963) *Proc. Soc. Exp. Biol.* **113**, 989-994
25. Mosesson, M. W., Galanakis, D. K., and Finlayson, J. S. (1974) *J. Biol. Chem.* **249**, 4656-4664
26. Berliner, S., Niiya, K., Roberts, J. R., Houghten, R. A., and Ruggeri, Z. M. (1988) *J. Biol. Chem.* **263**, 7500-7505
27. Collier, H. A., and Collier, B. S. (1983) *Hybridoma* **2**, 91-96
28. Liu, F. T., Bohn, J. W., Ferry, E. L., Yamamoto, H., Molinaro, C. A., Sherman, L. A., Klinman, N. R., and Katz, D. H. (1980) *J. Immunol.* **124**, 2728-2737
29. Nachman, R. L., and Leung, L. L. K. (1982) *J. Clin. Invest.* **69**, 263-269
30. Gailit, J., and Ruoslahti, E. (1988) *J. Biol. Chem.* **263**, 12927-12932
31. Marguerie, G. A., Edgington, T. S., and Plow, E. F. (1980) *J. Biol. Chem.* **255**, 154-161
32. Andrieux, A., Hudry-Clergon, G., Ryckewaert, J.-J., Chapel, A., Ginsberg, M. H., Plow, E. F., and Marguerie, G. (1989) *J. Biol. Chem.* **264**, 9258-9265
33. Plow, E. F., Pierschbacher, M. D., Ruoslahti, E., Marguerie, G., and Ginsberg, M. H. (1987) *Blood* **70**, 110-115
34. Niewiarowski, S., Budzynski, A. Z., and Lipinski, B. (1977) *Blood* **49**, 635-644
35. Smith, J. W., and Cheresh, D. A. (1990) *J. Biol. Chem.* **265**, 2168-2172
36. Lam, S.-C. T., Plow, E. F., Smith, M. A., Andrieux, A., Ryckewaert, J.-J., Marguerie, G., and Ginsberg, M. H. (1987) *J. Biol. Chem.* **262**, 947-950
37. Lahiri, B., and Shainhoff, J. R. (1972) *Biochim. Biophys. Acta* **303**, 161-170

